

Aus:
Sonderforschungsbereich 29, Embryonale Entwicklung
und Differenzierung – Embryonalpharmakologie
(WE 18 Universitätsklinikum Charlottenburg)
Arbeitsgruppe für Teratologie und Embryologische Genetik
Leitung: Prof. Dr. Walter Kocher

Wirkungen einer cholinomimetischen Substanz (Carbachol) auf die embryonale Skelettentwicklung des Huhnes

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rautenberg, Cordula
Berlin 1983





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Hinweis:

Die in dieser Arbeit angegebenen Vergrößerungsmaße der Abbildungen beziehen sich auf die Originalarbeit.

Dieser Druck steht im Größenverhältnis 1:2 zu der Originalarbeit. So ist eine in diesem Druck als $8\times$ angegebene Vergrößerung hier nur $4\times$ vergrößert.

Aus:
Sonderforschungsbereich 29, Embryonale Entwicklung
und Differenzierung – Embryonalpharmakologie
(WE 18 Universitätsklinikum Charlottenburg)
Arbeitsgruppe für Teratologie und Embryologische Genetik
Leitung: Prof. Dr. Walter Kocher

**Wirkungen einer
cholinomimetischen Substanz
(Carbachol)
auf die
embryonale Skelettentwicklung
des Huhnes**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rautenberg, Cordula
Berlin 1983

Referent: Prof. Dr. Walter Kocher

Korreferent: Prof. Dr. M. Vogel

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12. Januar 1983

Inhalt

	<u>Seite</u>
I. Einleitung	4
II. Material und Methodik	6
III. Wirkungsmuster am Fetus (Untersuchungsergebnisse bei 10- bis 14-tägigen Keimen)	
1. Normalverhältnisse	8
2. Äußerlich erkennbare Veränderungen	9
3. Veränderungen der Brust- und Bauch- organe	13
4. Skelettveränderungen	14
5. Beobachtungen zur Mißbildungsstärke und -häufigkeit	38
6. Behandlungsphasen-Spezifität der teratologischen Wirkungen des Carbachol?	39
IV. Ergänzende Befunde (Pathogenese)	
1. Normalverhältnisse der untersuchten Entwicklungsstadien (2. bis 8. Brutttag)	40
2. Chorda und Segmentierung- Befunde an 2- bis 5-tägigen Keimen	41
3. Skelettentwicklung: Befunde an 5- bis 8-tägigen Keimen	50
V. Diskussion	54
VI. Zusammenfassung	62
VII. Literatur	64

I. Einleitung

Die physiologischen Wirkungen cholinomimetischer Substanzen auf die cholinergen Synapsen und ihr Wirkungsmechanismus sind weitgehend bekannt. Doch besitzen die Cholinomimetika auch teratogene Eigenschaften, über deren Ursachen und Folgen unsere Kenntnisse noch unvollständig sind, obwohl bereits am Ende des vorigen Jahrhunderts Untersuchungen darüber angestellt wurden. So unternahm 1895 erstmals C. FERE Versuche an Hühnerembryonen, bei denen er durch Injektion von Nikotin Mißbildungen erzeugte (11).

Seit den vierziger Jahren dieses Jahrhunderts beschäftigten sich zahlreiche Arbeiten mit den teratogenen und morphogenetischen Wirkungen cholinomimetischer Substanzen. 1960 ergaben Versuche von LANDAUER an Hühnerembryonen, daß Nikotinsulfat in erster Linie Halswirbelfusionen mit daraus folgender Verkürzung des Halses sowie Muskelhypoplasie an den Beinen hervorruft (29). Arbeiten, die in der Folge namentlich von LANDAUER (30-36) und auch in der französischen Schule (hier besonders von MEINIEL (43-45) ausgeführt wurden, zeigten, daß die Kombination dieser Defekte auch nach Gabe anderer, auf die cholinergen Synapsen wirkender Substanzen auftreten, von denen besonders die Organophosphate Parathion, Physostigmin und Bidrin sowie das Parasympathomimetikum Carbachol zu nennen sind. In den Arbeiten von STRUDEL (51), GATEAU (12) und MEINIEL (40-43) galt das Interesse in erster Linie den Halswirbelmißbildungen, die durch Parathion und Nikotinsulfat hervorgerufen werden. Bei der Untersuchung der morphogenetischen Primärveränderungen stellte sich heraus, daß der Mißbildung der Wirbel Verbiegungen und Krümmungen von Chorda und Neuralrohr vorausgehen können, welche später zu Unregelmäßigkeiten der Segmentierung führen.

LANDAUERS Untersuchungen befaßten sich vorzugsweise mit den Wirkungen des Carbachol und dessen Interaktionen mit weiteren, die neurale Erregung beeinflussenden Substanzen. Die Ergebnisse

stützen sich auf die Letalitätsraten und die Anteile gewisser auffallender äußerlicher Mißbildungen nach einmaliger Behandlung 24, 48, 72 bzw. 96 Stunden bebrüteter Keime (31,32,33,35).

In der vorliegenden Arbeit sollte die teratologische Wirkungsweise der Cholinomimetika am Beispiel des Carbachol morphologisch weiter aufgeklärt werden. Dafür wurde die erwähnte Versuchsanordnung von LANDAUER beibehalten. In erster Linie war die Frage zu beantworten, ob bzw. in welchem Ausmaß eine Abhängigkeit des Wirkungsmusters des Cholinomimetikums vom embryonalen Entwicklungsstand zum Zeitpunkt der Behandlung (=Behandlungsphasenspezifität) vorliegt. Dies sollte vor allem mit Hilfe der bewährten morphologischen Kriterien, die das fetale Skelett bietet, geschehen. Durch präparative Aufbereitung der Keime und Inspektion derselben bei der Entnahme aus dem Ei wurden zusätzliche Informationen gewonnen. Ergänzend wurde die Entwicklung des teratologischen Wirkungsmusters verfolgt. Dieser Teil der Untersuchung sollte nur die prinzipiellen Abläufe der Pathogenese zeigen; er konnte dank der sehr gleichmäßigen morphogenetischen Wirksamkeit des Teratogens auf eine relativ kleine Zahl von Keimen verschiedener Organogenesestadien beschränkt werden.

II. Material und Methodik

Hühnerembryonen (Weiße Leghorn) wurden einmalig, entweder 24, 48, 72 oder 96 Stunden nach Brutbeginn (38° C, ca. 60 % rel. Luftfeuchte) mit je 1,75 mg Carbachol, gelöst in 0,05 ml destilliertem Wasser, durch Injektion in den Dottersack behandelt. Ein Teil der Kontrolleier blieb unbehandelt, ein anderer wurde parallel zu den Experimentalkeimen mit 0,05 ml destilliertem Wasser gespritzt.

Die Mehrzahl der Keime wurde zur Untersuchung des Skeletts am 10., 12. oder 14. Bruttage mit Chloroform abgetötet, in Formol (1 Vol. Teil konzentriertes Handelsformalin auf 9 Vol. Teile Wasser) fixiert und anschließend zu doppeltgefärbten Knorpel-Knochen (Elsässischblau-Alizerinrot)-Aufhellungspräparaten verarbeitet (Abb. 12). Aufbewahrung und Untersuchung erfolgte in 100 %igem Glycerin.

In unserem Labor wurden nur Experimentalkeime, die entweder am 10. Bruttage zur Skelettdarstellung fixiert oder in jüngeren Stadien aufgehellt wurden sowie normale unbehandelte bzw. mit aqua dest. behandelte Kontrollen erbrütet. Die 12- und 14-tägigen fixierten Feten und einige unbehandelte Kontrollkeime waren uns von Herrn Professor W. Landauer, London, in Fixationslösung übersandt worden.

Untersuchungsmaterial für die Skelettanalyse

Insgesamt wurden 50 Versuchskeime und 23 unbehandelte bzw. mit aqua. dest. gespritzte Kontrollkeime im Alter zwischen 10 und 14 Tagen untersucht und in Bezug auf Oberflächenstrukturen und Skelett verglichen (Tab. 1).

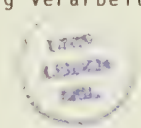
Tabelle 1

Zahl der Experimental- und Kontrollfeten
(aufgehellte Totalpräparate mit Knorpel-Knochendarstellung)

Fixierungstag	Behandlungszeitpunkt				Kontrollkeime
	24 h	48 h	72 h	96 h	
10. Tag	5	5	7	3	7
12. Tag	3	3	5	4	9
14. Tag	3	4	4	4	7

Frühstadien

Um Einblicke in die Entstehung der fetalen Mißbildungen zu gewinnen, wurden 18 Versuchs- und 6 Kontrollkeime zwischen dem 2. und 8. Inkubationstag dem Ei entnommen. Jüngere Keime (bis 5. Tag) wurden in Bouin'scher Flüssigkeit fixiert. An ihnen wurden in aufgehelltem Zustand (Methylbenzoat) äußere Merkmale und innere Organe untersucht; Körperlängen und Größen gewisser Organe wurden bei den jüngsten aufgehellten Keimen anhand von Fotos mit einem Meßrad ermittelt. Von zwei 4-tägigen Keimen wurden parasagittale Paraffinschnittserien angefertigt (8 μ HE). Einige ältere Keime (5. bis 8. Tag) wurden in gleicher Weise wie die 10- bis 14-tägigen Feten zu Totalpräparaten mit Skelettdarstellung verarbeitet.



III. Wirkungsmuster am Fetus

(Untersuchungsergebnisse bei zehn- bis vierzehntägigen Keimen)

1. Normalverhältnisse

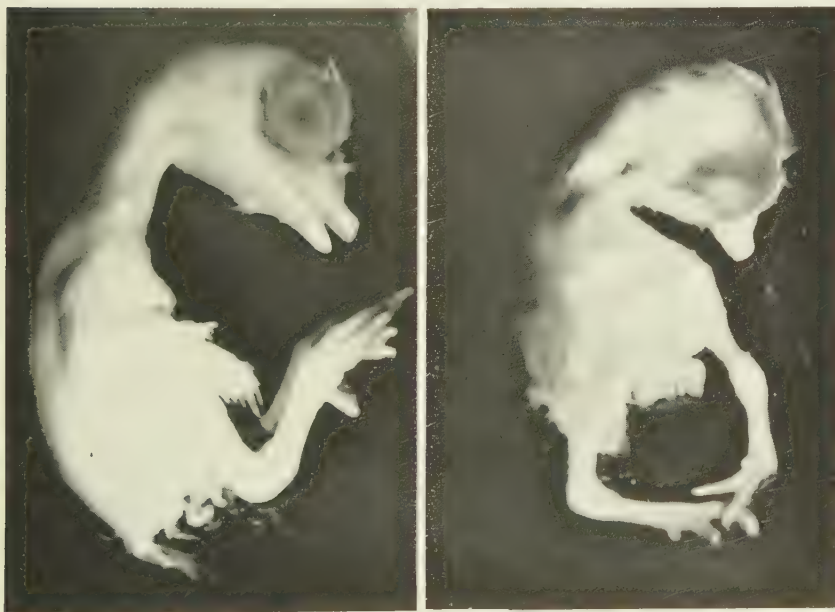
Bei der folgenden kurzen Charakterisierung der Normalverhältnisse der 10- bis 14-tägigen Hühnerkeime sind nur die für diese Untersuchung wichtigen Merkmale (siehe HAMILTON (16) und DU TOIT (8)) berücksichtigt. Der 10. bis 14. Bruttag erwies sich für das Erkennen von Skelettmisbildungen als besonders günstig, da zu dieser Zeit das Knorpelskelett vollständig ausgebildet ist (wobei am 10. Tag die Verknöcherung beginnt). Die äußere Gestalt (Kopf, Schnabel, Extremitäten) sowie die meisten inneren Organe sind in dieser Entwicklungsphase weitgehend ausgeformt. Die Federanlagen stellen sich am 10. Tag noch als niedrige Papillen dar, am 12. Tag sind sie etwa 5 Millimeter lang, am 14. Tag haben sie bereits eine Länge von 15 mm erreicht und setzen dem Ausrupfen einen deutlichen Widerstand entgegen. Die äußeren Proportionen des Keimes ändern sich vom 10. bis 14. Bruttag vor allem insofern, als zu dieser Zeit im Vergleich zum übrigen Körper besonders die Hinterextremitäten an Größe zunehmen; die Beinmuskulatur entwickelt sich jetzt stark. Große Unterschiede zwischen dem 10- und 14-tägigen Fetus bestehen im Ausmaß der Verknöcherung. Während beim 10-tägigen knorpel-knochengefärbten Normalkeim erst an einigen wenigen Stellen (Tibia, Femur) die Knochenkerne gerade zu erkennen sind, hat beim 14-tägigen die Verknöcherung in nahezu allen Skelettelementen begonnen. Unterschiede bestehen auch in der Gestalt des Sternums. In den frühen Entwicklungsstadien des Vogelembryos ist das Sternum paarig angelegt (10). Die beiden Anteile vereinigen sich (von cranial beginnend) beim Huhn zwischen dem 8. und 10. Bruttag. Bei einem Teil der 10-tägigen Normalkeime ist das äußerste caudale Ende des Sternalschwertes noch paarig. Die äußere Form der knorpeligen Wirbelanlagen gleicht beim 10-tägigen Fetus weitgehend den Wirbeln der älteren Tiere; die Gliederung der Wirbelsäule mit 45 bis 46 (selten 47) Wirbeln ist abgeschlossen. Das Ausmaß der Verknöcherung der Wirbel nimmt vom 10. bis 14. Entwicklungstag deutlich zu. Die Anzahl voneinander getrennter Caudalwirbel ist bei den 10-tägigen Keimen meist um ein bis zwei Wirbel höher als bei den älteren Keimen. Die Ursache dafür liegt in der beginnenden Verschmelzung der Wirbel der hinteren Körperhälfte zum Synsacrum und Pygostyl.

Bezüglich der erwähnten Kriterien ergaben sich keine Unterschiede zwischen unbehandelten und mit aqua dest. behandelten Kontrollkeimen.

2. Äußerlich erkennbare Veränderungen

a) Allgemeines

Der Vergleich eines Experimentalkeimes mit einer gleichaltrigen Kontrolle (Abb. 1) verdeutlicht die typischen Veränderungen, die durch die Behandlung mit Carbachol entstehen. Der Experimentalkeim ist kleiner als der Kontrollkeim. Sein Hals ist kurz und plump, der Rumpf im Verhältnis dazu unproportioniert, rundlich und relativ breit. Die Beine sind oft auffallend mager und zeigen eine nur schwache Muskelentwicklung.



a

b

Abb. 1: 14-tägiger ungefärbter Kontrollkeim (a)
und gleichaltriger Experimentalkeim (b); 1,4 X

Die weiteren äußerlich erkennbaren qualitativen Veränderungen von zehn- bis vierzehntägigen Versuchskeimen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Sie werden im folgenden einzeln behandelt.

Behandlung	24 h			48 h			72 h			96 h		
Fixierung	10.d	12.	14.	10.d	12.	14.	10.d	12.	14.	10.	12.	14.
Keim-Nr.	12345	123	123	12345	123	1234	1234567	12345	1234	123	1234	1234
Ödem	0	0	0	0	0	0000	0000000	00000	0000	0	000	000
Hämatom	0	0		0			00	0		0	00	
gekrümmte Zehen	0	0	000	0	0	0	0	00	0	0	00	0
Muskel- hypoplasie				0	000			00				0
Halsbeugung nach rechts	00000	00	0	00000	000	00	00000000	000000	00	0	0	0000

Tabelle 2: Äußerlich erkennbare Mißbildungen

0 = stark ausgeprägt; o = schwach ausgeprägt

b) Epidermis

Die Federanlagen der Versuchskeime weisen einen leichten Entwicklungsrückstand gegenüber denen der Kontrollen auf. Sie stehen bei den 12-tägigen Keimen weniger dicht bei- einander, sind bei den 14-tägigen Keimen durchschnittlich zwei bis drei Millimeter kürzer und lassen sich leichter von der Haut lösen als bei den unbehandelten Vergleichs- tieren.

26 von 50 behandelten Keimen zeigen an verschiedenen Kör- perstellen blasige Epidermisabhebungen. Diese Hautblasen werden im allgemeinen durch eine wässrige Flüssigkeit vom Untergewebe abgehoben und wirken straff gespannt; die Federanlagen der ödematösen und der normalen Hautbezirke unterscheiden sich nicht. Ein Drittel der Betroffenen weist mehrere Hautblasen an verschiedenen Körperteilen auf. In 13 Fällen liegen diese in der Steißregion, in 11 Fällen im Unterschnabelbereich, die übrigen Hautblasen verteilen sich auf Oberschenkel, Bauchregion, Schädel und Rücken. Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, sind 24-stündig behandelte Keime noch wenig betroffen, zudem scheint sich die Bildung der Hautblasen noch bis zum 14. Bruttag zu manifestieren (Tab. 2).

Bei acht Versuchskeimen wurden bei der Entnahme rotbraune Blutansammlungen (Hämatome) festgestellt. Sie lagen je zur Hälfte in der Hals- bzw. Steißregion, ein weiteres lag im linken Temporalbezirk des Kopfes.

c) Muskulatur

Bei sechs der 15 vierzehntägigen Versuchskeime ist die Beinmuskulatur auffallend schwach entwickelt, vier leiden zusätzlich an einer Hypoplasie der Flügelmuskulatur, ein Keim (Behandlung nach 96 h) zeigt eine generalisierte Muskelhypoplasie auch am Hals, Rücken und Bauch. In allen Fällen ist die Hypoplasie der Beinmuskulatur weitaus stärker

ausgeprägt als die der Flügelmuskulatur. Die Muskelhypoplasie ist nur bei vierzehntägigen Keimen deutlich ausgeprägt, die später als nach 48-stündiger Bebrütung behandelt wurden, (eine Ausnahme hiervon bildet ein zwölftägiger Keim mit einer schwach ausgeprägten Beinmuskulaturhypoplasie). Feten mit Muskelhypoplasie sind ausnahmslos auch von anderen Mißbildungen, namentlich blasigen Epidermisabhebungen besonders stark betroffen (siehe Tab. 2 und 3).

d) Hals

Bei 37 der 50 Experimentalkerne ist der Hals stark nach rechts, nur bei einem nach links abgebogen. Die Rechtsbeugung des Halses ist unabhängig von der Struktur der weiter unten beschriebenen Halswirbelveränderungen. Auch zeichnen sich die stark gebogenen Hälse durch eine eigentümliche Starre aus; nach der Entnahme aus dem Ei ließen sie sich passiv kaum oder gar nicht in eine andere Richtung bewegen, was jedoch bei den Kontrollen möglich war. Eine Abhängigkeit von Behandlungs- bzw. Entwicklungsstadium ist für die Halsbiegung nicht erkennbar. Bei den meisten (47) Experimentalkernen ist der Hals im Verhältnis zu den übrigen Körpermaßen verkürzt.

e) Zehen

Etwa die Hälfte der 14-tägigen Experimentalkerne zeigt eine stark ausgeprägte Plantarkrümmung aller Zehen. Bei einem 14-tägigen Tier erscheint die Zehenkrümmung nur einseitig (links). Relativ selten und weniger ausgeprägt wird eine doppelseitige Zehenkrümmung bei jüngeren Versuchskeimen gefunden (Tab. 2). Bei den Kontrollkeimen unterblieb die Plantarkrümmung der Zehen mit einer Ausnahme.

f) Schnabel

Bei 5 behandelten Keimen ist der Oberschnabel im Verhältnis zum Unterschnabel etwas verkürzt. Während der Oberschnabel bei Feten dieses Alters normalerweise den Unterschnabel um

ungefähr einen Millimeter an der Spitze überragt, decken sich bei den erwähnten Keimen beide Schnabelspitzen entweder genau oder die Unterschnäbel sind sogar etwas länger als die Oberschnäbel.

3. Veränderungen der Brust- und Bauchorgane

Beim Eviscerieren der Keime vor der Skelettdarstellung wurden die innere Anatomie des Rumpfes und die Eingeweide unter dem Stereomikroskop untersucht. Mißbildungen der Eingeweide waren nicht erkennbar. Bei 4 Experimentalkеimen mit stark veränderten Proportionen, mit einem gekrümmten, wie gestaucht erscheinenden, verkürztem Rumpf waren die Eingeweide caudal verlagert, so daß die Mägen unterhalb der Nabelhöhe lagen. Zwei Versuchskeime zeigten die gleiche Veränderung; der Durchmesser der Aorta war bei seinem Abgang vom Herzen zu Gunsten des außergewöhnlich breiten Truncus arteriosus dexter auf etwa die Hälfte reduziert.

4. Skelettveränderungen

In den Elsässischblau-Alizerinrot-Aufhellungspräparaten ließen sich die Skelettstrukturen in allen Einzelheiten beurteilen. Lediglich die Untersuchung des inneren Schädelskeletts bereitete in einigen Fällen Schwierigkeiten. Mit einer Ausnahme zeigen alle behandelten Feten skelettale Veränderungen. Diese treten in allen Behandlungsgruppen in nahezu gleicher Häufigkeit und Ausprägung auf.

Beim Vergleich des Skelettes eines 14-tägigen Versuchskeimes mit dem eines gleichaltrigen Kontrollkeims (Abb. 2 und 3) fallen zunächst die im Abschnitt 2 beschriebenen Veränderungen auf: der Experimentalkeim ist insgesamt kleiner, sein Körper erscheint plump und gestaucht, der Hals ist verkürzt und nach rechts gebeugt. Folgende skelettale Mißbildungen sind zu erkennen: reduzierte und verformte Halswirbel, Wirbelverschmelzungen in Hals und Thorax, ein breit gespaltenes, verkrümmtes Sternum, unregelmäßig gewachsene, zusammengeschobene und verbogene Rippen und ein verkrümmtes Zungenbein. Sämtliche in dieser Untersuchung gefundene skelettalen Mißbildungen sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Sie werden im folgenden nach den betroffenen Skelettabschnitten gruppiert behandelt.



b

a

Abb. 2: Skelett eines 14-tägigen Kontrollkeims (a) und eines gleichalten Experimentalkeims (b); ca. 3 x

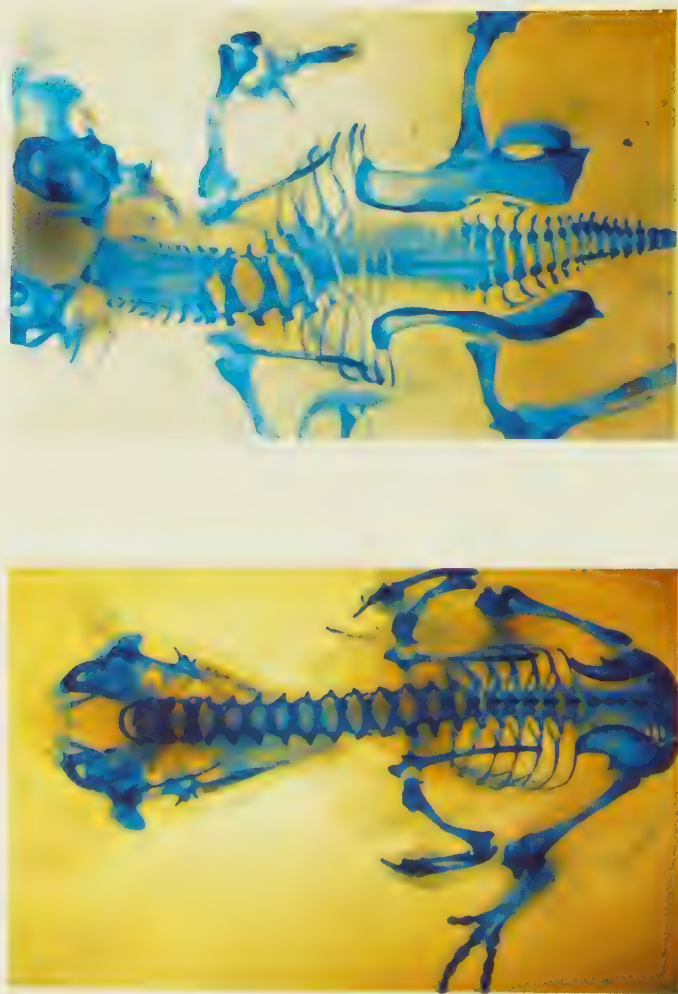


Abb. 3: Skelette in Dorsalansicht, 10-tägiger Kontrollkeim (a) und gleichalter Experimental-
keim (b); 4 x bzw. 6, 4 x

Behandlung	24				48 h				72 h				96 h			
Fixierung (Tag)	10.	12.	14.	10.	12.	14.	10.	12.	14.	10.	12.	14.	10.	12.	14.	10.
Keim-Nr.	12345	123	123	12345	123	1234	12345	123	1234	1234567	12345	1234	123	1234	1234	1234
Mißbildung an:																
Halswirbelsäule	00	00	000	000	000000	000	0000	000	0000	00000000	00000	0000	000	0000	0000	0000
Brustwirbelsäule	0	0	0	0	0	000	000	0	0	000	00	0	0	00	0	0
Lumbal- und Schwanzwirbelsäule	0	00	00	000	0	0	0	0	0	000000	0000	0	0	000	000	000
Scapula	0	0	00	00	0	000	000	0000	0	0000	00000	0	00	00	00	0
Sternum	00	00	00	0	0	0000	0	0	0000	00000000	00000	0000	000	000	0	00
Rippen	00	00	000	000	00000	000	0000	0000	0000	000000	0000	0000	000	0000	0000	0000
Proportion bezüglich Scapula-Becken	0	000	000	0	0	0	0	0000	000000	000000	00000	00	000	000	0000	0000
Zungenbein	00	00	00	00000	0	0	00000	0	00000	0000000000	00000	00000	000	0000	0	00
Os pubis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	00	00	00	0	0	0	0
Trachea	0									0						

Tabelle 3: Die Skelettmißbildungen der 50 Carbachol behandelten Feten
0 = stark, o = schwach ausgeprägte Veränderungen

a) Wirbelsäule (Tab. 4)

Die auffälligsten Veränderungen der Experimentalkeime sind Mißbildungen der Wirbelsäule. Die Halswirbelsäule ist, von einer Ausnahme abgesehen, bei allen Versuchstieren betroffen, während Mißbildungen an anderen Teilen der Wirbelsäule seltener und schwächer ausgeprägt sind (Tab. 3 und 4). Ein Beispiel einer Halswirbelsäule, die verschiedene Mißbildungen, die im folgenden beschrieben werden, aufweist, ist in Abb. 4 schematisch dargestellt.

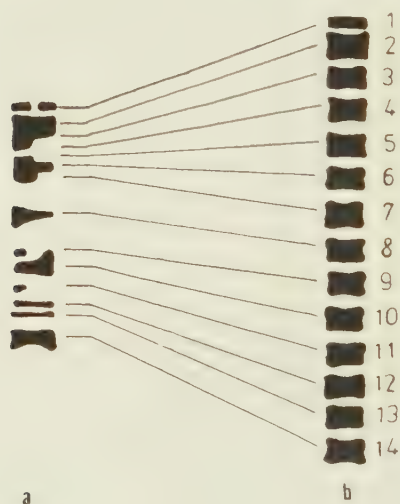


Abb. 4: Schematische Darstellung der Halswirbelsäule eines behandelten Keimes (a). Die Skelettelemente sind den entsprechenden Wirbeln 1-14 eines Normalkeimes (b) zugeordnet.
 1: Wirbelbogen nicht geschlossen
 2-4: Blockbildung, 4-5: verringerter Abstand zwischen zwei benachbarten Wirbeln, 5,7: teilweise fehlender Wirbelbogen, 7-8: sehr weiter Abstand, 8: unsymmetrische Wirbelform, 12,13: sehr schmale Wirbel, 14: unregelmäßig geformter, etwas verschmälertter Wirbel

Wirbelkörper und Wirbelbögen der mißgebildeten Feten sind in unterschiedlichem Ausmaß verschmolzen. Eine Verwachsung von mindestens vier hintereinanderliegenden Wirbeln (Blockbildung) erscheint in 70 - 80 % der Fälle (Abb. 3). Besonders häufig sind die cranialen Halswirbel untereinander verschmolzen, z. T. derart, daß die einzelnen Wirbel kaum noch zu identifizieren sind. Sind benachbarte Wirbel nicht miteinander verschmolzen, so liegen sie meistens dichter als normal beieinander. Selten ist der Abstand zwischen zwei benachbarten Wirbeln vergrößert. Viele Halswirbel haben eine irreguläre asymmetrische Form. In 14 derartigen Fällen ist der rechte Teil des Wirbels kleiner als der entsprechende linke Teil, in 5 Fällen ist das Verhältnis umgekehrt. Häufig unterblieb der mediane Schluß der Wirbelbögen. Die lateralen Wirbelbogenanteile sind oft mit ihren gleichseitigen cranialen oder caudalen Nachbarn verwachsen. In vielen Fällen besteht keine Verbindung zwischen Wirbelkörper und einem seiner zugehörigen Bogenteile. 10 x fehlt eine rechte, 2 x eine linke Wirbelbogenhälfte ganz. Jedoch wird niemals ein kompletter Wirbel vermißt. Unabhängig von Verschmelzungen der Wirbelkörper und Wirbelbögen sind häufig auch die Lateralfortsätze miteinander verwachsen (Abb. 3). Teilweise fehlen sie ganz. Fast alle mißgebildeten Wirbel haben zwar einen normalen Durchmesser, aber eine geringere cranio-caudale Ausdehnung (Abb. 2) als normale Wirbel. Dies gilt besonders für die cranialen Halswirbel. So beruht die Halsverkürzung auf der Reduktion der cranio-caudalen Wirbellänge, der Reduktion der Wirbelabstände und Wirbelverschmelzungen.

Tabelle 4: Mißbildungen der Wirbelsäule

B	=	Behandlungszeitpunkt
I	=	Inkubationsdauer
K	=	Keim Nr.
HW	=	mißgebildete Wirbel des Halses (Wirbel Nr.)
Bl	=	Blockbildung mit mind. 4 Halswirbeln
TW	=	mißgebildete Thoracalwirbel (Wirbel Nr.)
A	=	schwere Asymmetrie bei Thoracalwirbeln
CW	=	mißgebildete Wirbel des hinteren Wirbelsäulen- abschnittes (Wirbel Nr., fortlaufend ab lumbal 1 gezählt)
fS	=	"freie" (gelöste) Spinae post. der Lumbalwirbel

B	I	K	HW	B1	TW	A	CW	fS
24 h	10 . d	1	1-9	x			1-6	
		2	1-10	x				
		3						
		4	1-10				2-10	
	12 . d	5	1-12	x	1-4	x	2-9	x
		1	2					
		2	1-8	x	4-5		5-8	
		3	1-8				1	
	14 . d	1	1-10	x	1	x	2-3	x
		2	1-7				12	
		3	1-10	x			3	
48 h	10 . d	1	1-13	x	2-5	x	8	
		2	1-9					
		3	1-10	x	2-6		8-10	
		4	1-11		1	x		
	12 . d	5	1-12	x	1	x	8-9	
		1	1-13	x	1-2	x	14	x
		2	1-9	x	1-3	x		
		3	1-9	x	1-7	x	11	x
	14 . d	1	1-8	x				
		2	1-13	x				x
		3	1-11	x				x
		4	1-11	x	1-3	x	5,6	x
72 h	10 . d	1	2					
		2	1-11	x	1	x	2-7	
		3	1-10	x			1-8	x
		4	1-8				2-6	x
		5	1-12	x	1-4	x	2-8	x
		6	1-12	x	1-7	x	1-11	x
		7	1-10		1	x	2-10	
	12 . d	1	1-13	x	1-2	x		x
		2	1-13	x	1	x	3-4	
		3	1-10				3-4	x
		4	1-9	x	1-4		1-2	
	14 . d	5	1-8		1-3	x	1-4	x
		1	1-9	x			13	x
		2	1-10	x	1	x		x
		3	1-10	x				
		4	1-8		1			
96 h	10 . d	1	1-8				2-7	x
		2	1-10	x	1-2	x		
		3	1-9					
	12 . d	1	1-11				4	
		2	1-10	x	1	x	2-3	
		3	1-12	x	1-4	x	2-5	x
		4	1-8					
	14 . d	1	1-14	x			3	x
		2	1-8	x			3	
		3	1-8		1	x	1-3	x
		4	1-10	x				

Dreiviertel der Versuchstiere zeigen mehrere der beschriebenen Veränderungen gleichzeitig (Abb. 4), die Zahl der betroffenen Wirbel variiert. Wie aus Tab. 4 ersichtlich, sind in erster Linie die cranialen Halswirbel mißgebildet, in einem Fall sind alle 14 Halswirbel mißbildet. Bei zwei Keimen allerdings ist nur der zweite Wirbel (Axis) verändert, indem sein Bogen in der Mitte gespalten ist. Bei diesen beiden auch sonst wenig beeinträchtigten Tieren und sogar noch in dem einzigen Fall, in welchem keine Wirbelmißbildungen vorliegen, ist der Hals verkürzt oder er zeigt die typische Verbiegung nach rechts.

Übergang von der Hals- zur Thoracalwirbelsäule

In dieser Arbeit werden aus praktischen Erwägungen die beiden ersten rippentragenden Wirbel zu den Thoracalwirbeln gezählt, obwohl sie nach der konventionellen Gepflogenheit meistens zu den Halswirbeln gerechnet werden. Bei der von uns gewählten Einteilung beträgt die Zahl der Cervicalwirbel 14 und die der Thoracalwirbel 7.

Normale 10- bis 14-tägige Keime zeigen gelegentlich eine kleine Veränderung ihrer ersten beiden Thoracalwirbel oder des letzten Cervicalwirbels. Bei dieser Varietät sind die beiden Anteile der Spinae post. des Wirbelbogens, die sich im Laufe der Embryonalentwicklung zu einer einzigen median gelegenen Spina post. vereinigen sollten, noch als zwei kleine Knorpelkerne getrennt. Diese doppelte Spina post. erscheint bei vier Kontrollen (17 %); jedoch bei 52 % der Experimentalkerne (bei einem Drittel davon an allen drei genannten Wirbeln).

Die Thoracalwirbelsäule ist in einer geringeren Zahl von Fällen und weniger stark von Veränderungen betroffen als der Hals (Tab. 4). Bei allen Keimen ist die normale Anzahl von sieben Thoracalwirbeln vorhanden. Fusionen benachbarter Wirbel erscheinen in 8 Fällen. Häufiger (21 x) ist der Abstand zwischen benachbarten Wirbeln reduziert. Die Wirbel liegen dann nicht nur dicht beieinander, sondern teilweise

sogar unter- und übereinander. In 15 Fällen sind die Wirbel asymmetrisch, wobei die rechte Seite häufiger kleiner ist als die linke. In Verbindung damit zeigen auch die gelenkigen Beziehungen der Wirbel untereinander Unregelmäßigkeiten. Bei 42 Embryonen stehen bei 2 bis 12 Wirbeln die Gelenkflächen nicht miteinander in Verbindung, in 8 Fällen bilden sich erst zwischen den übernächsten Wirbeln und Rippen gelenkartige nachbarschaftliche Beziehungen.

Die Zahl der Synsacral- und Caudalwirbel der Versuchskeime liegt stets im Normbereich. Veränderungen des hinteren Wirbelsäulenabschnittes sind nicht so häufig und weniger schwer als an den weiter cranial gelegenen Anteilen. Die Form der Lateralfortsätze variiert bei 52 % der Experimentalkеime, während sie bei den Kontrollen stets regelmäßig ist (Abb. 5). Ein Teil der Lateralfortsätze fehlt ganz, andere sind breiter und plumper als die der Kontrollen, einige sind in Richtung zur Schwanzspitze gekrümmt.

Abb. 5 (Seite 24)

Dorsalansicht von Caudalwirbelsäule und Becken eines zwölf-tägigen Experimentalkеimes (a) und einer gleichaltrigen Kontrolle (b); Zeichenapparat, ca. 8 x. Man beachte besonders die Seitenfortsätze des Synsacrum und der Caudalwirbel, ferner den Abstand zwischen Scapula und Becken. Da das Becken des Kontrollkeims die normale steile Lage zeigt, ist in der Dorsalansicht bei ihm das Os pubis nicht sichtbar.

Sc = Scapula, R = Rippen, S = Synsacrum, F = Femur, Pu = Os pubis, B = Becken, P = Pygostyl

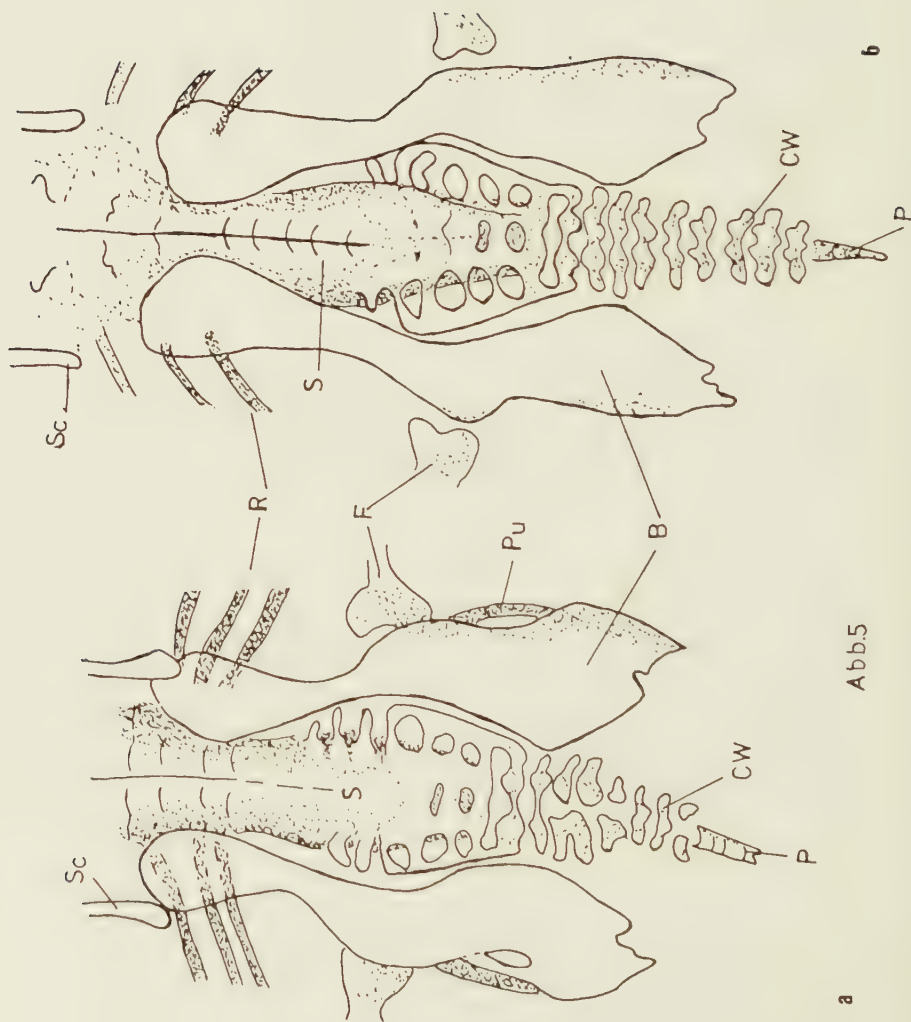


Abb.5

Bei 14 Versuchstieren fehlt der Zusammenhang zwischen Spina post. und Wirbel im Bereich des ersten Lendenwirbels oder/ und der beiden letzten Thoracalwirbel (Abb. 6), so daß die Spinae post. wie Sesambeine frei im periachsischen Gewebe liegen. Im Bereich der ersten Caudalwirbel sind nicht selten die Wirbelbögen median offen (Abb. 5).

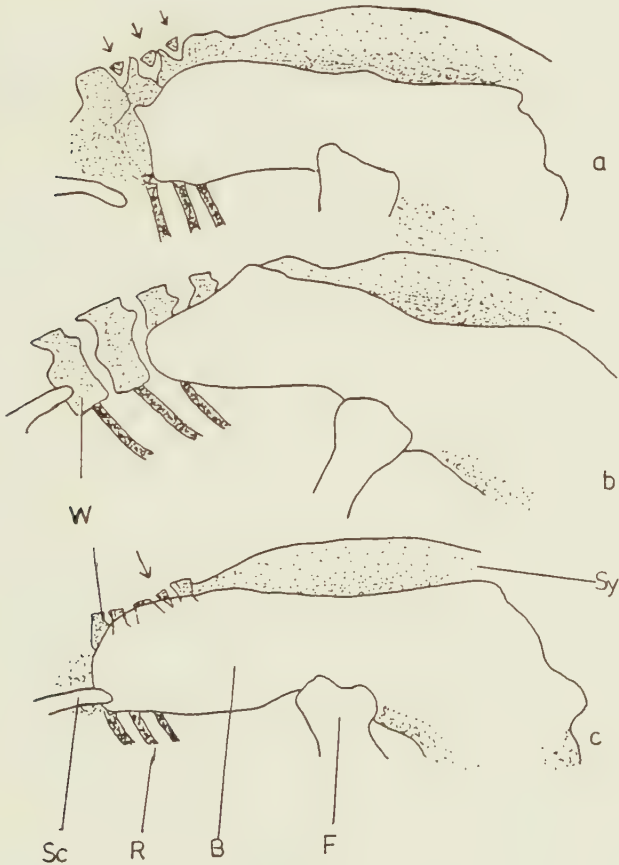


Abb. 6: Seitenansicht der Beckenwirbelsäule eines Kontrollkeimes (b) und zweier Experimentalküken (a,c). Die Pfeile weisen auf die "freien" Spinae post.
W = Wirbel, Sc = Scapula, R = Rippe, B = Becken, F = Femur,
Sy = Synsacrum, ca. 8 x

Die Veränderungen der synsacro-caudalen Wirbelsäule erscheinen in unterschiedlicher Ausprägungsstärke bei ca. zwei Dritteln der Versuchsfeten. Bei Keimen, die am Hals stark mißbildet sind, ist in der Regel auch die Caudalwirbelsäule relativ stark verändert.

Bei den Experimentalkeimen ist das Ausmaß der physiologischen Verwachsung der Querfortsätze und der physiologischen Wirbelfusion im Pygostyl geringer als bei den Normalkeimen. Daher erwecken knapp die Hälfte der Versuchsfeten den Eindruck eines leichten Entwicklungsrückstandes im hinteren Abschnitt der Wirbelsäule.

Bei 10-tägigen Kontrollen existiert oft noch ein schmaler Spalt von variabler Länge in der Mitte der letzten Caudalwirbelbögen, während beim 14-tägigen normalen Fetus die Wirbelbogenanteile im allgemeinen bis zum Schwanz miteinander verwachsen sind. Bei 18 der 30 12- und 14-tägigen Versuchskeime zeigt auch das Persistieren des Spalts zwischen den caudalsten Bogenhälften den Entwicklungsrückstand an: er ist gewöhnlich etwas breiter und reicht im Durchschnitt einen bis zwei Wirbel weiter nach cranial, als bei den 10-tägigen Kontrollen.

Krümmung der Wirbelsäule, Proportionsveränderungen der Körperachse: Die Krümmung des Halses nach rechts bei 37 der 50 behandelten Keime wurde bereits im Zusammenhang der äußeren Abänderungen beschrieben (Seite 12). Daß die Rechtsbeugung nicht von entsprechenden Wirbelasymmetrien verursacht sein muß, zeigt die Tatsache, daß Verschmälerungen und Unregelmäßigkeiten der Wirbel in 5 dieser Fälle auf der linken Seite vorliegen (Seite 19).

Die Kyphose des cranialen Halsabschnittes ist bei den Experimentalkeimen weniger stark ausgeprägt als bei den Kontrollkeimen. Die Thoracalwirbelsäule ist dagegen oft stärker lordotisch als die unbehandelten Tiere. Diese Lordose bewirkt zum Teil die Proportionsveränderung der Körperachse zwischen

Scapula und Becken, bei welcher die caudale Scapulaspitze dem cranialen Beckenrand genähert ist, bzw. sich beide sogar überlappen (Abb. 5-7). Ebenso wird durch die verstärkte Lordose eine Schrägstellung von Becken und Os pubis bewirkt, die diese in der Dorsalansicht breiter erscheinen läßt (Abb. 3, 5, 12).

Normalerweise liegen zwischen der caudalen Scapulaspitze und dem cranialen Beckenrand ein oder zwei Rippen, während die darauffolgenden 6. und 7. Rippen in ihrem Ursprung vom Os ilium bedeckt werden. Bei den Experimentalkeimen, wo außer der verstärkten Lordose der Wirbelsäule auch die Abstände der Rippen untereinander verringert sind, ist bereits die 5. oder sogar die 4. Rippe vom Becken bedeckt. In 10 Fällen überragt die Scapulaspitze den oberen Beckenrand und die Beckenschaufel bedeckt dann insgesamt drei bzw. vier Rippen. In diesen stark mißbildeten Keimen sind meist die Spitzen der Scapulae geknickt (siehe Seite 35 und Abb. 7, 12). Proportionsveränderungen im Rumpf bestehen bei 80 % der Versuchskeime.

c) Becken

Die Becken der Experimentalkeime sind kleiner als die der Vergleichstiere, wohl teilweise bedingt durch die insgesamt geringere Körpergröße der Versuchstiere. Die an einer stark lordotischen Wirbelsäule befestigten Becken sind etwas stärker gekrümmt. Die Beckenschaufeln sind an ihrem cranialen Ende stumpfer geformt. Die physiologischerweise stattfindende Fusion von Os ilium und Os ischium ist weniger fortgeschritten als ihrem Alter entspräche. Auch die Verknöcherung weist einen leichten Rückstand auf. Mißbildungen treten an der Beckenschaufel (Os ilium, Os ischium) nicht auf, aber bei den Experimentalkeimen sind geringe Abweichungen von der Norm innerhalb der normalen Variationsbreite der Beckenform häufiger. In zwölf Fällen befinden sich an den knorpeligen Rändern des Beckens der Versuchstiere kleine zusätzliche Knorpelhaken oder Knorpelstückchen, die meistens in der Gegend des Foramen ischiadicum liegen. Derartige Bildungen sind nur bei 2 Kontrollkeimen vorhanden.

Das Os pubis ist in den meisten Fällen von der Carbacholbehandlung nicht beeinträchtigt. Vier Versuchskeime zeigen in der Mitte des Os pubis einen Knick (Abb. 8; in einem Fall rechtsseitig, in zweien linksseitig, in einem beidseitig). Das rechte Os pubis eines weiteren Versuchskeimes ist in der Mittelregion unterbrochen; die Enden der beiden Anteile überlappen einander. Bei behandelten Keimen mit verstärkter Lumbal-lordose steht das Os pubis etwas weiter vom Becken ab, als es bei den Kontrollen der Fall ist (Abb. 5).



Abb. 8: Os pubis eines Experimentalkeimes (Normalverhältnisse siehe Abb. 2), ca. 7 x;
(Durch mangelnde Anfärbung erscheint das Os pubis in der Mittelregion verdünnt)

d) Sternum

Die Form des Sternums ist häufig verändert (Abb. 9, 10). Bei den meisten betroffenen Keimen unterblieb die Fusion der paarigen Sternalanlagen (Abb. 9, 10, 14). Bei 44 der 50 Versuchskeime klaffen die Sternalplatten caudal auseinander. In 36 Fällen ist dies sehr ausgeprägt. Die Sternalplatten sind oft bizarr geformt und unterschiedlich lang.

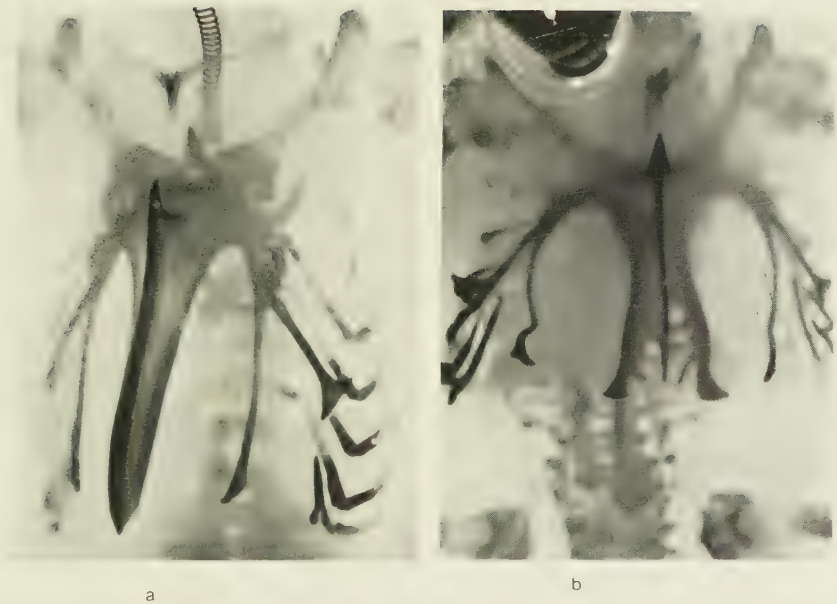


Abb. 9: Sternum, (a) Kontrollkeim, (b) Experimentalkeim, 6,5 x

Bei 16 (vorwiegend bei 12- bis 14-tägigen) Keimen wurden segmental angeordnete Aussparungen in den caudalen Enden der Sternalplatten gefunden (Abb. 9, 10 a, 10 d). Auf diese Weise können bis zu vier Segmente gebildet sein, die nur teilweise spiegelbildlich liegen. Die Sternalplatten der am stärksten mißgebildeten Feten sind nach ventral oder dorsal gekrümmt (Abb. 14 b). Manche Sternalplatten sind auf einer oder auf beiden Seiten schaufelartig vergrößert, andere an ihren Rändern gezackt oder eingebuchtet (Abb. 10 c). Geringe Sternalmißbildungen sind solche mit zwar teilweise getrennten, aber regelmäßig und schmal geformten Sternalplatten. Die Lateralfortsätze des Sternums und der Kiel, sofern er sich ausbilden konnte, haben stets eine regelmäßige Anordnung und eine normale Länge; selten sind die Lateralfortsätze etwas gekrümmt.

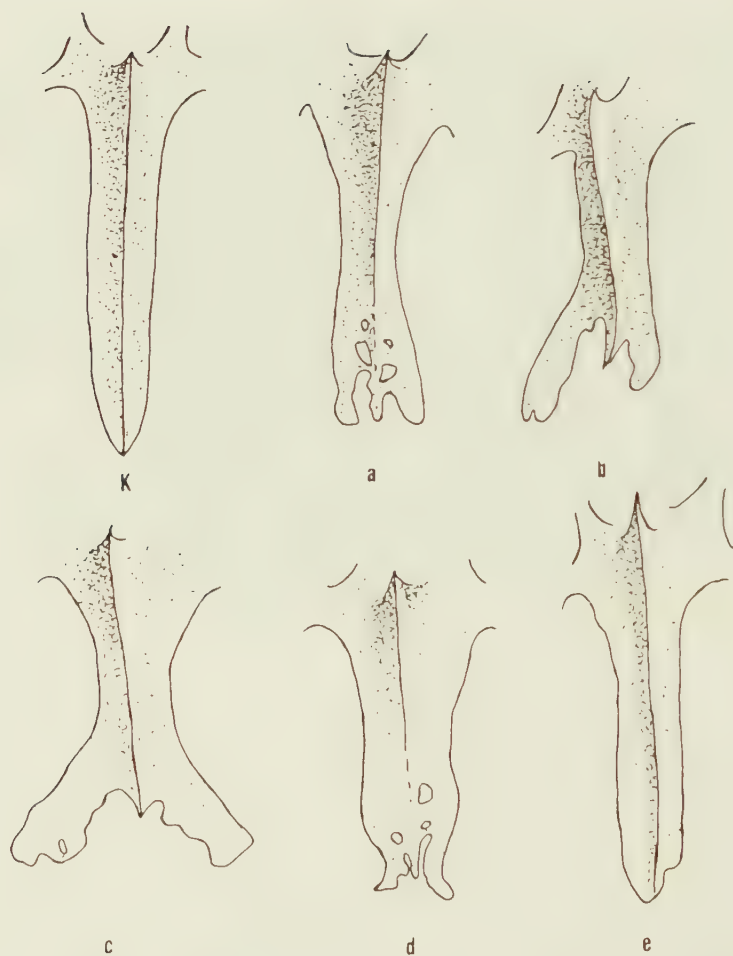


Abb. 10: Sternalmißbildung, dargestellt an einigen ausgewählten Beispielen 14-tägiger Feten; K = Kontrolle; Zeichenapparat ca. 4 x

e) Rippen und Brustkorb (Abb. 11)

Mit einer Sternalmißbildung geht meistens eine Mißbildung von Rippen und Brustkorb einher. Der Brustkorb hat bei den Kontrollkeimen ungefähr die Form eines breiten, kurzen Zylinders; bei den betroffenen Experimentalkeimen gleicht seine Form eher einem Trichter mit breiter Basis, der an verschiedenen Stellen ausgebeult und eingebuchtet ist. In diesen Fällen macht der Rumpf einen runden, kurzen zusammengedrückten Eindruck. Die Deformation des Brustkorbs ist durch die entstehenden, in alle Richtungen verbogenen Rippen bedingt.

Rippen: Die sternalen Rippenanteile sind besonders oft verändert (Abb. 11 b bis 11 e). Sie fehlen bei 12 Experimentalkeimen teilweise. 16 mal existieren sternale Anteile einer zusätzlichen (8.) Rippe (Abb. 11 b). Seltener ist die vollständige Bildung einer zusätzlichen Rippe einschließlich ihres vertebralen Anteils. Die meisten Zusatzbildungen sind kurz, nur zweimal erreichen sie die zugehörigen Wirbel. Kleine zusätzliche Knorpelhaken oder -teilchen bilden sich gelegentlich auch bei normalen Feten. In 10 Fällen sind cranio-caudal benachbarte Rippenteile miteinander verwachsen (Abb. 11 c bis 11 e). Dabei können sowohl die benachbarten vertebralen als auch die sternalen Rippenteile verschmolzen sein. Einzelne Rippenanteile, vorzugsweise der am weitesten cranial oder caudal gelegenen Rippen, sind abnorm gekrümmt (Abb. 11 e). Am wenigsten verändert sind die mittleren Rippen.

Bei 22 Versuchskeimen erreichen - ein- oder beidseitig - ein bis drei der sternalen Rippenanteile wegen ihrer Kürze das Sternum nicht (Abb. 11 b, d, e). Bei einem Drittel der Versuchskeime fehlen ein oder mehrere der Hakenfortsätze (Proc. uncinati) ganz, ebenso oft sind diese mißgeformt. Die beiden letzten angeführten geringen Formveränderungen zeigen auch 8 % der Kontrollen. 92 % der Experimental feten sind von Rippenveränderungen in irgendeiner Form betroffen.

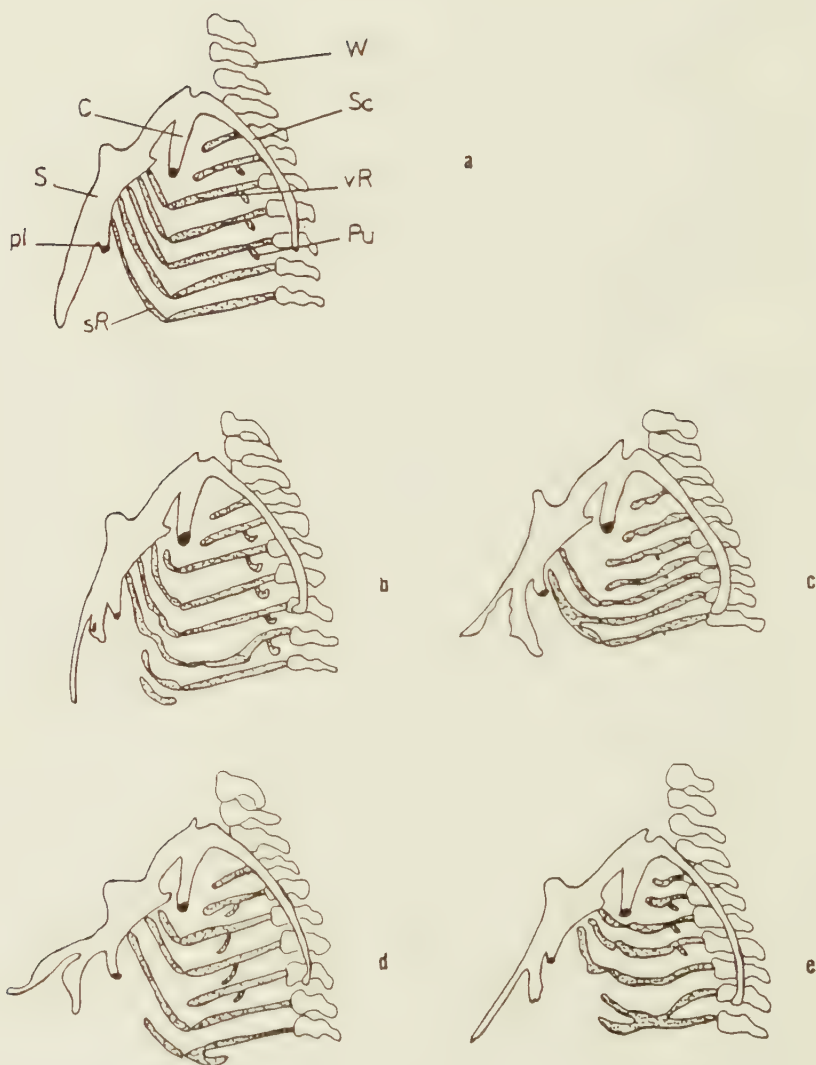


Abb. 11: Rippenveränderungen, halbschematisch dargestellt an einigen Beispielen (b, c, d, e), verglichen mit einem unbehandelten Kontrollkeim (a), ca. 2 x
 C = Clavicula, teilweise entfernt; pl = process. lat., teilweise entfernt; W = Wirbel; Sc = Scapula; S = Sternum; vR = vertebraler Rippenteil; Pu = Process. uncinati; sR = sternaler Rippenteil

f) Scapula

Die Scapula, welche bei älteren Kontrollen parasagittal gradlinig verläuft, ist bei den 10-tägigen normalen Feten noch leicht lateralwärts geschwungen. Eine solche Lateralwärtskrümmung ist bei drei Vierteln auch der älteren aller Versuchskeime erkennbar. Sieben Keime, bei welchen der Rumpf besonders stark gestaucht ist, zeigen einen ausgeprägten Knick der caudalen Scapulaenden nach lateral. In einem Fall ist der Knick der Scapula nur auf der rechten Seite ausgebildet. Bei 16 Keimen ist die Schulterblattkrümmung gegenüber den Kontrollen geringgradig stärker ausgebildet (Abb. 13 b, Mitte).

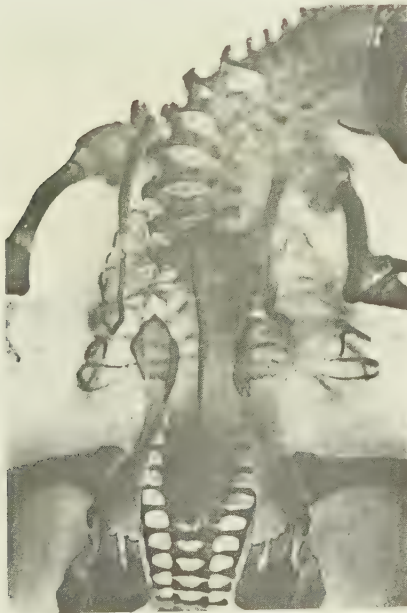


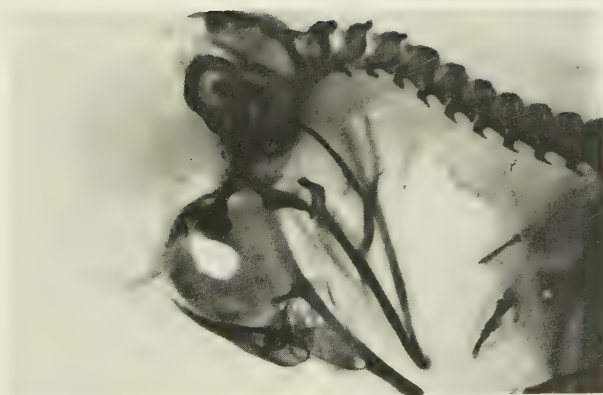
Abb. 12: Dorsalansicht des Rumpfes eines 14-tägigen Versuchskeims, beachte besonders die mißgebildeten Scapulae (Normalverhältnisse siehe Abb. 3), ca. 4 x



Abb. 13: Variabilität der Scapulaform, (linke Scapulae von dorsal) (a) unbehandelte Keime, (b) behandelte Keime; ca. 4 x

g) Zungenbein

Veränderungen des Zungenbeins kommen bei den Versuchskeimen sehr oft vor. Die hintere Copula der Versuchskeime ist häufig verdünnt oder nach rechts oder links verbogen. Die Epibranchialhörner sind bei 44 % der behandelten Feten stark verbogen oder meanderförmig gekrümmt (Abb. 14). Leichtere Krümmungen erscheinen in weiteren 19 Fällen. Ältere Keime sind von größeren Zungenbeinmißbildungen betroffen als die 10-tägigen. Zwar zeigen sich auch bei unbehandelten Keimen zweimal Veränderungen der Cornuahyoidei, diese sind jedoch auf die äußersten Spitzen der Cornua beschränkt, die in diesen Fällen schneckenförmig eingerollt sind.



a



b

Abb. 14: Zungenbein, beim unbehandelten (a), beim behandelten Keim (b), 10. Tag.
Beachte auch das gespaltene und verbogene Sternum.

h) Sonstige Veränderungen

Bei zwei der 14-tägigen Versuchskeime sind die Knorpelspangen in der oberen Hälfte der Trachea nicht ringförmig, sondern stabartig gerade gebildet. Diese Veränderungen lassen keine Beziehung zu weiteren Mißbildungen erkennen. Vier 10-tägige Versuchskeime haben nach links verbogene Interorbitalsepten. Es handelt sich hier allerdings um Keime, deren noch weiches Schädeldach bei der Färbung geplatzt ist, was die Ursache der Veränderung sein könnte.

Weitere Änderungen oder Mißbildungen der Skelette traten nicht auf. Insbesondere die Knochen und Knorpel der Extremitäten sind normal. Auch das Schädelskelett und das Gesichtsskelett ist, von den Proportionen des Schnabels (Seite 12) abgesehen, normal gebildet.

5. Beobachtungen zur Mißbildungsstärke und -häufigkeit

Die meisten Versuchstiere sind kleiner als die Kontrollen. Messungen mit dem Stechzirkel ergaben, daß die Scheitel-Steißlänge der Behandelten um 10 - 20 % reduziert ist. Drei Schnäbel sind deutlich verkürzt: die vom Os quadratum bis zur Oberschnabelspitze gemessene Länge liegt 1 bis 1,5 mm unter der der Kontrollen. Nur relativ geringfügige Reduktionen wurden dagegen an der Tibialänge festgestellt. Bei den Versuchskeimen kann auch keine Retardation der Verknöcherung der Tibia festgestellt werden, obwohl Retardationen bei der Verwachsung der Synsacralwirbel in der Beckenentwicklung sowie der Federentwicklung vorliegen.

Die beschriebenen skelettalen Mißbildungen sind bei den 10-tägigen Feten ebenso wie bei 14-tägigen erkennbar, einige Mißbildungen treten jedoch bei den letzteren ausgeprägter in Erscheinung. Dies gilt vor allem für die Verwachsungen in der Halswirbelsäule. Hier sind am 10. Tag die Seitenfortsätze der Wirbel noch leichter zu unterscheiden und die einzelnen Wirbel leichter voneinander abgrenzbar als am 14. Tag. Auch die Mißbildungen des Zungenbeins und des Sternums sind am 14. Tag ausgeprägter.

Die Beinmuskelhypoplasie wird bei 14-tägigen Feten häufiger angetroffen (bei 6 von 15 Tieren) als bei jüngeren, wo sie nur in einem der 35 Keime deutlich ausgeprägt ist. Ähnliches gilt für die Zehenkrümmungen.

6. Behandlungsphasen-Spezifität der teratologischen Wirkungen des Carbachol?

Die Mißbildungen, die nach einmaliger Carbacholbehandlung nach 24- bis 96-stündiger Bebrütung auftreten, weisen keine qualitativen Unterschiede auf, das teratologische Wirkungsmuster ist nicht behandlungsphasen-spezifisch. Mißbildungsrate und -ausmaß sind dagegen nicht für jeden Behandlungszeitraum gleich. Wie aus Tab. 5 zu entnehmen ist, treten Ödeme und Mißbildungen der Thoracalwirbelsäule, der Scapula, des Zungenbeins, auch des Sternums bei Behandlung nach 48 bzw. 72 Stunden gehäuft auf.

Tab. 5: Vorkommen der verschiedenen Mißbildungen

Behandlungszeitpunkt	24 h	48 h	72 h	96 h

Anzahl der Keime	11	12	16	11
Ödem	3	6	11	6
Mißbildung der Thoracalwirbelsäule	3	8	8	4
Scapulakrümmung	6	11	12	7
Zungenbeinkrümmung	6	11	15	9
Sternalmißbildung	8	11	16	9
Mißbildung der Caudalwirbelsäule	6	7	8	4
gekrümmte Zehen	5	3	5	4

IV. Ergänzende Befunde (Pathogenese)

Zum Verständnis der beschriebenen fetalen Skelettmißbildungen werden im folgenden die wichtigsten Entwicklungsstufen der Pathogenese dargestellt. Auf den ergänzenden Charakter dieses Untersuchungsteils sei hingewiesen; im Rahmen unseres Themas konnte methodische Vollständigkeit dieses Teils nicht angestrebt werden (vgl. S. 5).

1. Normalverhältnisse der untersuchten Entwicklungsstadien (2. bis 8. Brutttag)

Die folgende kurze Charakterisierung der Normalverhältnisse von Frühstadien basiert auf der Untersuchung eigener Normalkeime unter Beiziehung der Hamburger-Hamiltonschen Normaltafeln (15). Für jedes Stadium sind nur die charakteristischen und für die Untersuchung wichtigen Merkmale erwähnt.

Zweitägige Keime (H-H-Stadien 12 bis 14, 16 bis 22 Somiten, Abb. 15 a) drehen und legen sich im Kopf- und Halsbereich bis ungefähr in Höhe des 8. Somiten auf die linke Seite. Endhirn und Mittelhirn bilden einen rechten Winkel zueinander, der Hals biegt sich leicht nach dorsal. Das Herz legt sich auf die ventrale Seite, die Augenblasen beginnen sich einzustülpen.

Dreitägige Keime (H-H-Stadien 18 bis 20, 30 bis 43 Somiten): Die Rotation des Keimes auf die linke Seite schreitet bis zur Schwanzregion fort. Der Hals ist ventralwärts gebeugt, so daß der Kopf die Brust berührt. Die Arm- und Beinknospen, die im Stadium 18 gerade erst entstehen, sind im Stadium 20 schon halb so lang wie breit. Der Schwanz rollt sich ein, er ist noch nicht segmentiert.

Viertägige Keime (H-H-Stadien 23 bis 24): Flügel- und Beinknospen sind nun länger als breit. Die Rückenkontur wird im Rumpfbereich zunehmend kyphotisch, die Nackenbeuge bildet sich aus. Die Somitenbildung hat seit einem halben Tag die Schwanzspitze erreicht.

Fünftägige Keime (H-H-Stadien 26 bis 27): An den Extremitätenanlagen sind die Paletten angelegt und zeigen Interdigitalfurchen. Vom 4./5. Somiten bis zum 15./16. Somiten ist der Hals gerade; er biegt sich cranial um 90° soweit, daß der Kopf auf der Brust liegt. In der Höhe der Flügelknospe biegt sich die Rückenkontur in weitem Bogen um etwa 35°, in der Höhe der Beinknospen beginnt die Schwanzkrümmung.

Im Halsbereich sind die Somiten bereits in Umwandlung in Sklerotome und Myotome begriffen.

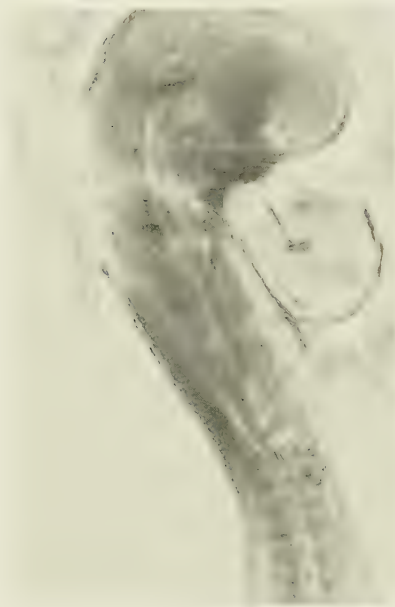
Vom 6. bis 8. Tag (H-H-Stadien 29 bis 34) entwickeln sich vor allem die Extremitäten und das Visceralskelett des Kopfes. Im Bereich von Chorda und Somiten entsteht das knorpelige Achsenskelett. Am 8. Tag ist der Unterschnabel soweit ausgewachsen, daß seine Spitze nahezu diejenige des Oberschnabels erreicht hat; die Interdigitalhäute zwischen den Zehen werden abgebaut.

2. Chorda und Segmentierung: Befunde an 2- bis 5-tägigen Keimen

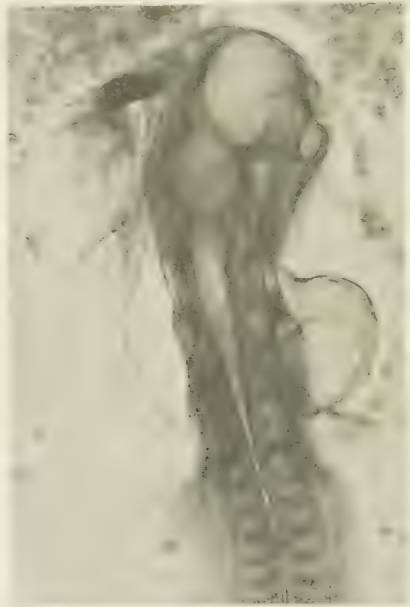
a) Aufgehellte Keime

Zweiter Tag: In zwei Eier wurden nach 24-stündiger Bebrütung Carbachol injiziert. Die Embryonen wurden nach weiteren 24 Stunden dem Ei entnommen. Sie sind kleiner als der Kontrollembryo (Tab. 6), zeigen jedoch keine auffälligen Abänderungen bezüglich Chorda, Neuralrohr und Somitenzahl (22 Somiten). Auch das Amnion ist normal entwickelt. Die Keime sind jedoch bezüglich der physiologischen Körperdrehung im Rückstand: Während der Kopf des Kontrollkeimes bereits vollständig auf der Seite liegt, hat bei einem der behandelten Keime die Wendung auf die Seite noch gar nicht begonnen, die Wendung des Kopfes des anderen Keimes (Abb. 15) auf die Seite beträgt erst 30°. Ein deutlicher Entwicklungsrückstand ist in der Herzentwicklung erkennbar: Bei dem Kontrolltier ist bereits eine Herzschleife vorhanden, bei den Versuchskeimen nicht.

Abb. 15: Zweitägige Keime, Aufsicht; (a) unbehandelt;
(b) behandelt; leichter Entwicklungsrückstand, ca. 35 x



a



b

Die beiden dreitägigen Versuchskeime (24 Stunden nach Brutbeginn behandelt) haben die dem Brutalter entsprechende Zahl von Somiten (35/36) und auch die Schwanzdifferenzierung entspricht der von normalen gleichalten Keimen des H-H-Stadium 18. (Die beiden Kontrollkeime - einer unbehandelt, einer nach 24 Stunden mit aqua dest. behandelt - haben das H-H-Stadium 19/20 erreicht.) In anderen Körpermerkmalen weisen die beiden Versuchskeime einen leichten Entwicklungsrückstand auf: Ihre Körper sind gestreckter, die Ausbildung des Mesencephalon ist weniger vorangeschritten und ihre Herzen, besonders die Herzvorhöfe sind weniger

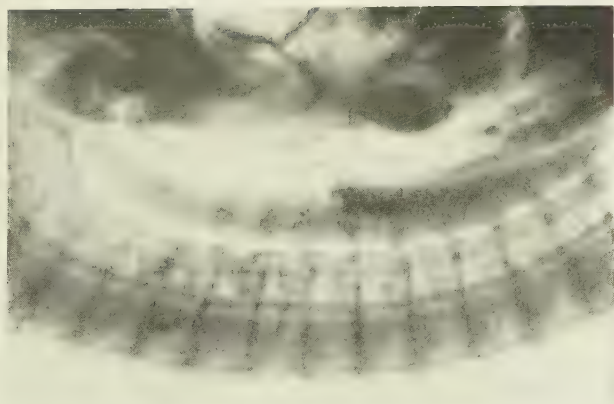
differenziert als bei den Kontrollen. So entspricht der Gesamteindruck eher den H-H-Stadien 16/17.

Bei dem in der allgemeinen Entwicklung weniger zurückgebliebenen Keim sind die Chorda und einige Halssomiten verändert. Zwischen dem 2. und 15. Somiten, d. h. im Bereich der größten physiologischen Krümmung der Chorda, zeigt diese einen leicht meanderförmigen Verlauf. Weiter caudal verlaufen Chorda und Neuralrohr regelmäßig. Die ersten 3 oder 4 Somiten erscheinen leicht deformiert. Ihre cranio-caudale Ausdehnung ist leicht reduziert, besonders deutlich am 2. Halssomiten. Die Nackenkontur zeigt in dieser Region geringfügige Unregelmäßigkeiten. Alle folgenden Somiten sind normal gebildet. Der andere 3-tägige Versuchskeim läßt keine Abweichungen von der normalen Entwicklung erkennen.

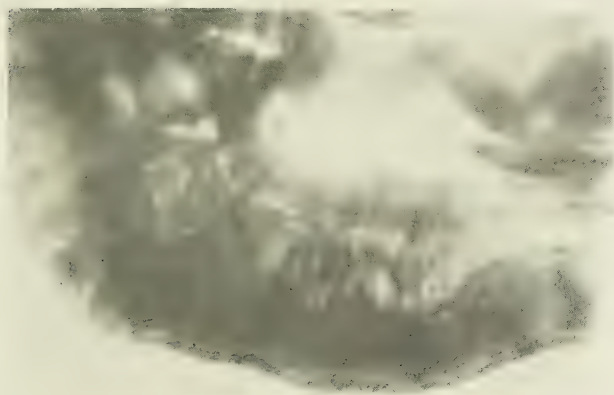
Vierter Tag: Zwei Versuchskeime und ein Kontrollkeim wurden nach 72 Stunden behandelt und 24 Stunden später dem Ei entnommen. Die Differenzierung von Schwanz und Extremitäten der beiden Versuchskeime entspricht dem H-H-Stadium 24 (ist also normal). Die allgemeine Körperkrümmung ist nur schwach ausgebildet. Einen Entwicklungsrückstand weisen Herz und Allantois auf, bei einem Keim auch die Differenzierung des Telencephalon. Nach diesen retardierten Merkmalen entspräche der Entwicklungsstand dem Stadium 20, nach der Körperbiegung einem noch früheren Stadium.

Erstmals ist bei den behandelten Embryonen eine Rechtsbeugung des Kopfes zu bemerken. Deutlich zu erkennen ist ein geschlängelter Verlauf der Chorda zwischen dem ersten und 16. Myotom und Irregularitäten im Bereich der Halssegmente (Abb. 16). Die Chorda zeigt 7 - 8 meanderförmige Biegungen, die nach dorsal, ventral und lateral gerichtet sind. Eine Regel der Bieungsrichtung der Meanderschleifen ist nicht erkennbar. Zwischen Somit 17 und 18 erscheint bei

beiden Keimen eine weitere, diesmal sehr sanft geschwungene Biegung nach ventral. Auch die äußere Rückenkontur ist unregelmäßig gebogen, sie folgt aber nicht allen Krümmungen der Chorda. Weniger auffallend sind die Veränderungen der Somiten bzw. Myotome. Ventral von den Scheitelpunkten der Chordabiegungen liegen Somiten bzw. Myotome dichter ihren Nachbarn an, während sie dorsal weiter auseinandergespreizt werden als normal. Die normalerweise quaderförmigen Somiten sind an solchen Stellen keilförmig oder halbmondförmig. So verändert sind einmal 9, das andere Mal 10 Somiten bzw. Myotome.



a



b

Abb. 16: Viertägige Keime (a) unbehandelt; (b) behandelt.
Meanderförmige Biegungen der Chorda, unregelmäßige Somitenform und Rückenkontur,
ca. 35 x

Fünfter Tag: Jeweils zwei Eier erhielten am 3. bzw. 4. Bruttag eine Carbacholinjektion, je ein weiteres Ei eine Kochsalzinjektion. Die Embryonen wurden am 5. Tag entnommen. Kontrollen und Versuchskeime unterscheiden sich größenmäßig nicht wesentlich. Die Chorda ist im Verhältnis zur Körpergröße in Folge ihrer meanderförmigen Biegungen bei den behandelten Keimen relativ länger als bei den Kontrollen. Die größten Biegungen liegen zwischen dem 1. und 12./14. Segment. Schwächere nach ventral gerichtete Biegungen existieren im Rumpfbereich zwischen 17. und 23. Segment. Zwischen den Behandlungstagen bestehen gewisse Unterschiede. Die am 3. Tag behandelten Keime haben 5 bzw. 8 nach ventral, dorsal oder lateral gerichtete Biegungen im Halsbereich. Der Keim mit der geringeren "Bogen"-zahl ist im Rumpfbereich stärker gekrümmt. Die am 4. Tag behandelten Keime zeigen beide vier Bögen, die weiter geschwungen sind als die der früher behandelten Keime. Die Veränderungen der Somiten und Myotome entsprechen denen der 4-tägig entnommenen Embryonen. In Höhe eines konvex nach ventral gekrümmten Bogens der Chorda drängen sich die Myotome fächerförmig zusammen. Sie sind wie unregelmäßige Trapeze geformt, deren Basisebene ventral liegt. Innerhalb eines dorsal gekrümmten Bogens sind die Verhältnisse umgekehrt. Die Außenkonturen des Halses sind entsprechend den Chordakrümmungen unregelmäßig geschwungen. Bei der Entnahme wurde bei einem Keim eine ebenfalls meanderförmige Krümmung des Neuralrohres bemerkt.

- b) Metrischer Vergleich der 2- bis 5-tägigen Keime. Die an photographischen Bildern gemessenen Körper- und Chordakrümmungen der unter a bis d beschriebenen Keime sind in Tab. 6 zusammengestellt und jeweils in Korrelation gebracht.

Tab. 6: Vergleich der Körper- und Chordalängen der Frühstadien

		Behandlungs- zeitpunkt	Körper- länge (mm)	Chorda- länge (mm)	Verhältnis Chorda/Körper (%)

2-tägig	Kontrolle		5,95	4,33	73
	Versuchskeime	24 h	5,40	3,90	72
			5,30	3,68	69
3-tägig	Kontrollen		8,10	6,63	82
			8,28	6,75	82
	Versuchskeime	24 h	8,45	6,33	75
			8,45	6,75	80
4-tägig	Kontrolle		14,76	13,50	91
	Versuchskeime	72 h	10,55	9,95	94
			13,08	13,08	100
5-tägig	Kontrollen		17,83	10,80	61
			17,08	10,25	60
	Versuchskeime	72 h	14,02	11,88	85
			14,28	14,58	84
		96 h	14,57	11,88	81
			14,03	14,03	100

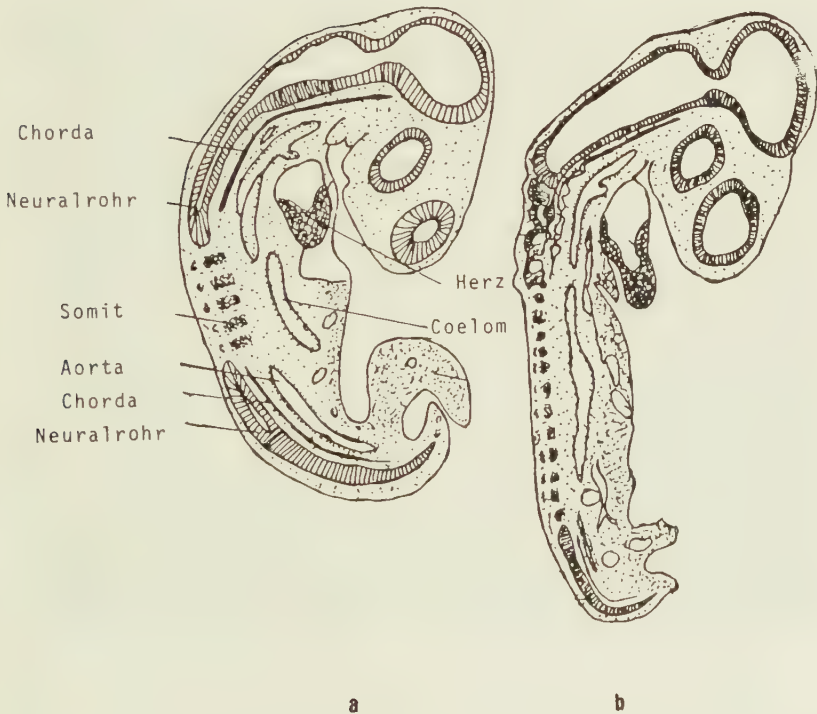
24 Stunden nach Carbacholgabe sind beim mindestens 3-tägigen, deutlicher beim 4-tägigen Embryo Krümmungen von Chorda und Neuralrohr zusammen mit Somitendeformationen zu erkennen. Die Differenzierung und Vermehrung der Somiten geht jedoch ungestört weiter, obwohl am übrigen Körper Merkmale eines leichten Entwicklungsrückstandes zu erkennen sind. Spätestens am fünften Tag ist die gekrümmte Chorda im Verhältnis zum Körper auffallend lang, dabei ist es gleich, ob die Carbacholinjektion am 3. oder 4. Bruttag stattgefunden hatte.

c) Schnittpräparat

Von je einem am 4. Tag fixierten Versuchskeim (behandelt am 3. Tag) und einem Kontrollkeim wurden sagittale Serienschritte hergestellt. Ihre Untersuchung ergab folgendes: Die Nackengebe am Ende des Rhombencephalon ist beim Experimentalkeim

nur schwach ausgeprägt, die caudalwärts anschließende Rückenkrümmung ist nicht ausgebildet. Di- und Telencephalon sind beim Versuchstier weniger weit entwickelt als beim Kontrollkeim. In Abb. 17 sind die Mißbildungen von Neuralrohr und Chorda zu erkennen. Die Unregelmäßigkeiten der beiden Achsenorgane bestehen aus etwa 8 meanderförmigen Krümmungen. Die Krümmungen des Neuralrohres beginnen unmittelbar hinter dem Rhombencephalon und enden in Höhe des 12. bis 14. Segmentes. Die Krümmungen der Chorda beginnen weiter cranial, im Bereich des Rhombencephalon. Streckenweise laufen die Biegungen von Chorda und Neuralrohr parallel. Die Halsmyotome vom 1. bis 11. Segment sind irregulär gebildet und ihre Abstände voneinander sind ungleichmäßig. Die übrigen Organe sind von den Krümmungen der Achsialstruktur unbeeinträchtigt.

Abb. 17: Darstellung eines etwa median gelegenen Sagittalschnittes zweier 4-tägiger Hühnerkeime, Kontrollkeim (a), Experimentalkeim (b). Die Körperbiegungen der Keime erforderten die Zusammenstellung von je zwei Schnitten zur Darstellung der wichtigsten Strukturen, dennoch sind einige Regionen parasagittal getroffen, ca. 10 x



3. Skelettentwicklung: Befunde an 5- bis 8-tägigen Keimen

Vier Keime, die am 3. Bruttag mit Carbachol behandelt worden waren, wurden mit je einem Tag Abstand vom 5. bis 8. Tag fixiert und nach Darstellung des Knorpelskelettes als Aufhellungspräparate untersucht.



a



b

Abb. 18: Experimentalkerne (Knorpelanfärbung)

(a) 5 Tage alt; ca. 8 x

(b) 6 Tage alt; ca. 6,4 x

Der 5-tägige Experimentalkeim (Abb. 18 a) befindet sich altersgemäß im H-H-Stadium 27, nur der Kopf zeigt einen leichten Entwicklungsrückstand, (der Abstand zwischen Frontalfortsatz, äußerem Nasenwulst und Maxillarwulst ist größer als normal, auch das Telecephalon ist in seiner Entwicklung zurückgeblieben). Die Entwicklung der Extremitäten und der weiteren äußeren Merkmale (z. B. Auge) ist normal.

Der Hals des Keimes ist auf die rechte Seite gebeugt. Die Rückenkontur ist gewellt. Die Krümmungen der Chorda sind wiederum am stärksten in der gesamten Halsregion ausgeprägt, wo sie meanderförmig in alle vier Raumrichtungen verlaufen. Eine Krümmung etwas geringeren Ausmaßes nach ventral und lateral befindet sich knapp oberhalb der Beinanlage. Die Halsmyotome sind im Gebiet größerer Krümmungen irregulär und gestaucht. Vier Myotome sind innerhalb der größten ventralen Konkavbeugung fächerartig aneinander gedrängt. Sie weichen um 5° bis 10° von den übrigen Somitengrenzen ab. Die ersten Anlagen der Wirbelbögen (die noch schwach angefärbt sind) sind normal und regelmäßig ausgebildet.

Auch beim 6-tägigen Versuchskeim (Abb. 18 b) ist die Chorda in der typischen Weise verformt: die Hauptkrümmungen liegen wieder im Halsbereich, eine größere Biegung (Lordose) liegt im mittleren Rumpfbereich. Von den Biegungen der Chorda werden die noch in Bildung begriffenen Wirbel beeinträchtigt. Die Wirbelkörper sind teilweise mißgebildet: an den Stellen, an welchen sie im Bereich einer der Meanderschleifen besonders eng sitzen, sind sie teilweise zusammengewachsen; dies betrifft vor allem die ersten vier Halswirbel. Auch den 4. bis 9. Wirbelkörper verbinden schwach angefärbte Gewebebrücken. Die Wirbelbogenhälften, die erst zu einem späteren Zeitpunkt dorsal zusammentreffen, haben vom 1. bis 8. Halswirbel unregelmäßige Abstände und sind unterschiedlich kräftig. Die 6. und 7. rechten Bogenhälften sind deutlich schwächer angefärbt als die entsprechenden Hälften der Gegenseite. Der 7. Wirbelbogen ist außergewöhnlich schmal. Erst im Thoracalbe-

reich stehen die Wirbelbogenanlagen in gleichmäßigen Abständen und parallel zueinander. Alle weiteren Skelettanteile des Embryos sind normal. Die Rippen, die in diesem Stadium noch die gleiche Größe wie die Wirbelbogenteile haben, liegen trotz der abnormen Rumpflordose der Chorda parallel zueinander und sind normal.

Der 7-tägige Versuchskeim ist seinem Alter entsprechend (H-H-Stadium 31) entwickelt. Der Hals ist um 30° nach rechts geneigt, die beiden Sternalanlagen haben sich einander genähert, doch klafft noch eine breite Lücke zwischen ihnen. Das Zungenbein beginnt sich zu entwickeln. Es besteht noch aus zwei völlig getrennten Anteilen, deren dorsale Spitzen etwas unregelmäßig gekrümmt sind.

Von der Seite gesehen zeigt die Wirbelsäule zwei Meanderbiegungen nach ventral und eine nach dorsal im Halsbereich sowie eine deutliche Lordose im Rumpfbereich. Innerhalb der Biegungen liegen die Wirbelkörper besonders dicht und die Wirbel sind hier teilweise verwachsen. Ein Teil der Wirbelbögen (die dorsal noch nicht geschlossen sind) ist jeweils cranio-caudal mit dem nächst folgenden Bogen verschmolzen (auf der rechten Körperseite der 2. bis 7. und der 8. und 9., linksseitig der 2. bis 8. Wirbelbogen). Die Rippen, die innerhalb der Rumpflordose liegen, verlaufen nicht genau parallel: sie sind im vertebralen Drittel in caudaler Richtung gekrümmt. Die Wirbelzahl und alle übrigen knorpeligen Skelettanlagen sind normal.

Der 8-tägige Experimentalkeim war bei der Entnahme aus dem Ei leicht ödematös und zeigte Hämatome. Er beugt den gestauchten Hals um ca. 40° nach rechts. Das knorpelige Skelett ist vollständig angelegt. Die Chorda ist nun in die Bandscheiben und Wirbel integriert und nicht mehr zu identifizieren.

Die Halswirbel 1 bis 13 sind mißgebildet (Abb. 19). Die Art ihrer Mißbildungen unterscheidet sich nicht von jenen, die

auch die älteren Keime zeigen: die Wirbel sind unregelmäßig zusammengewachsen; manche Wirbelbögen, die zu diesem Zeitpunkt dorsal geschlossen sein sollten, sind noch offen, ein Teil des 13. Wirbelbogens fehlt.

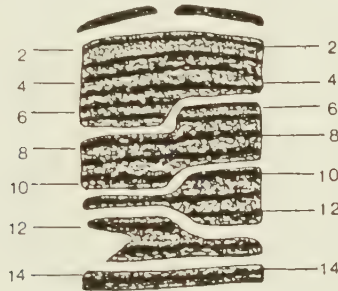


Abb. 19: Schematische Darstellung der Halswirbelfusionen des 8-tägigen Keimes von dorsal

Die Thoracalwirbelsäule bildet eine Lordose, innerhalb welcher die Wirbelbögen fächerartig aneinander geschoben sind. Der 3. Thoracalwirbelbogen ist dorsal offen, seine Teile sind verbogen. Teile der 3. bis 5. Thoracalwirbel sind miteinander verwachsen. Die sternalen Rippenanteile sind normal, die vertebralen Anteile zeigen in der Mitte eine Krümmung. Die linke 7. Rippe ist am stärksten verformt. Das Sternum zeigt immer noch eine breite Spaltung, ist aber sonst normal geformt (bei Entnahme dieses Keimes aus dem Ei war die ventrale Leibeshöhlenwand in diesem Bereich nicht geschlossen). Die Hörner des Zungenbeins sind an den Enden auffallend gekrümmt.

V. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit werden die Wirkungen des Cholinomimetikums Carbachol auf die Entwicklung von Hühnerkeimen innerhalb der ersten Inkubationstage dargestellt. Insbesondere werden die Auswirkungen auf das Skelettsystem beschrieben.

Nahezu alle Experimentalkeime sind von schweren Mißbildungen der Halswirbelsäule betroffen. Weniger ausgeprägt und weniger häufig sind die Mißbildungen der Thoracal- und Caudalwirbelsäule. Oft sind die Körperproportionen und die Stellungen von Skelettelementen zueinander verändert (80 %). Daneben treten Mißbildungen an Rippen (60 %), Sternum (88 %), Scapula (40 %) sowie am Zungenbein (44 %) auf. Gelegentlich kommt es zu Veränderungen am Os pubis (10 %), Schnabel (8 %), Trachea (4 %) und Herz (4 %). Dreiviertel der Versuchskeime zeigen Größenreduktionen und sind in einigen Entwicklungsmerkmalen retardiert; gewisse Normalvarianten erscheinen ungefähr 4 bis 6 mal so oft bei den behandelten Keimen. 48 der 50 Experimentalkeime hatten äußerlich erkennbare Veränderungen wie Ödeme, Hamatome, Beugung des Kopfes auf die rechte Seite, verkürzter Hals, gekrümmte Zehen und eine besonders die Beine betreffende Muskelhypoplasie.

A) Leitmißbildungen

Ein Teil dieser Merkmalsveränderungen läßt sich zwei verschiedenen Mißbildungskomplexen zuordnen, die in der Literatur beschrieben sind. Es handelt sich um das "Wirbel-Rippen-Syndrom" (52, 53) und das sogenannte "Torticollis-Beinmuskelnhypoplasie-Syndrom" (32).

Beim Wirbel-Rippen-Syndrom handelt es sich um eine Kombination von Wirbel- und Rippenmißbildungen, die auf Veränderungen von Chorda, Neuralrohr und Somiten folgen. Dieses Syndrom ist als erblich und angeboren bei vielen Wirbeltierarten und beim Menschen bekannt (2, 5, 17, 50, 53). Es gibt aber auch äußere Faktoren, die Wirbelsäulenmißbildungen oder auch das komplette Wirbel-Rippen-Syndrom hervorrufen können: Insulin (29), Lithium (48), Nickelchlorid (39), Röntgenbestrahlung (57), TEM (25),

gewisse Pestizide (5), Hypoglycämie, Kälte, Hitze und Anämie (52). Teilweise treten diese Mißbildungen in Kombination mit unterschiedlichen anderen Veränderungen auf.

Die durch Carbachol erzeugten Mißbildungen lassen sich am genauesten in das Mißbildungssystem des "Torticollis-Bein-muskelhypoplasie-Syndrom" einordnen. Dieses Syndrom wird charakterisiert durch die Kombination unterentwickelter Beinmuskulatur mit einem kurzen krummen Hals aus mißgebildeten Halswirbeln. Die dieses Syndrom verursachenden Pharmaka sind durchweg Cholinomimetika, die aber ihre cholinomimetische Funktion zum Teil auf pharmakologisch unterschiedlichen Wegen ausüben und chemisch keine Ähnlichkeit miteinander haben müssen (9, 56). Die am ausführlichsten auf ihre teratogenen Wirkungen untersuchten Substanzen dieser Gruppe sind Nikotinsulfat, Parathion und das Carbachol. Weitere Agentien, die das genannte Mißbildungssyndrom erzeugen und gleichzeitig auf cholinerge Synapsen einwirken, sind: Ethionin (32), Physostigmin (4), Bidrin (32, 49, 55), Neostigmin (32, 45) und Decamethonium (32, 45). LANDAUER vermutet aufgrund seiner Untersuchungen der Interaktionen der obengenannten Substanzen^o mit anderen, die Synapsen erregenden Pharmaka einen Zusammenhang zwischen dem durch Cholinomimetika hervorgerufenen Mißbildungskomplex und der Aktivität der Acetylcholinesterase (4, 35, 36, 38).

Substanzen, die eine alleinige Muskelhypoplasie ohne Wirbelmißbildungen erzeugen, sind z. B. das α -Neurotoxin (13) und das Botulismustoxin (7). Sie unterscheiden sich von der teratogenen Wirkung des Carbachols dadurch, daß sie zusätzlich verkürzend auf die langen Extremitätenknochen wirken. GIACOBINI erklärt die durch α -Neurotoxin hervorgerufene Muskelatrophie mit einer Blockade der Nikotin-Rezeptoren in der frühen Organogenese, die zu einer mangelhaften Entwicklung der motorischen Endplatte und anschließend zu der Muskelhypoplasie führt. Seine muskelschwachen Keime haben ebenfalls schwere Zehenkrümmungen.

Der Vollständigkeit halber muß ein weiteres Mißbildungssyndrom erwähnt werden: "Micromelie-Parrotbeak", das durch einen Teil der cholinergisch wirksamen Stoffe erzeugt wird (37, 49, 55). Die Ursache dieses Mißbildungssyndroms wird in einer Störung des Nikotinamidhaushalts vermutet (46, 47). Einige Cholinomimetika erzeugen beide Mißbildungssyndrome ("Torticollis-Beinmuskelhypoplasie" und "Micromelie-Parrotbeak"), wobei sich die Ausbildung des letzteren Syndroms verhindern läßt.

Eine große Ähnlichkeit besteht zwischen dem "Torticollis-Beinmuskelhypoplasie-Syndrom" und der Hühnermutante "crooked-neck-dwarf" (2, 31). Bei diesen Tieren erscheinen außer den Mißbildungen des Halses und der Muskelhypoplasie auch Tibiotarsalgelenk-Anomalien, die ebenfalls durch Carbachol erzeugt werden können (siehe Seite 57).

B) Übrige Veränderungen des Skeletts

Neben den "Leitmißbildungen" nach Carbacholbehandlung treten vor allem Mißbildungen des Sternums, der Rippen und der Scapula auf. Sternalmißbildungen kommen auch bei den "crooked-neck-dwarf"-Hühnern vor, die sich jedoch von denen in dieser Arbeit beschriebenen unterscheiden, da sie in erster Linie den Kiel und die Lateralfortsätze betreffen. Sternalmißbildungen sind eine allgemein häufiger auftretende Erscheinung. KOCHER (26) erhält z. B. nach TEM-Applikation an Hühnerembryonen Veränderungen in erster Linie der Lateralfortsätze zusammen mit einer generalisierten Reduktion des Sternums. Eine spontan nicht erfolgte Schließung des Sternums mit einer Zwerchfellhernie und im Brustraum liegenden Baueingeweiden wird von HONG (21) auch am Meerschweinchen beschrieben. Es liegt nahe, als Ursache der durch Carbachol erzeugten Sternalmißbildung die starken Achsenverbiegungen der betroffenen Keime anzunehmen: durch die Stauchung der Achse wird der Raum der Eingeweide beengt, wodurch der Zusammenschluß der Sternalplatten behindert werden könnte (36).

Mißbildungen des Zungenbeins sind auch nach Gabe von Nikotinsulfat, Neostigmin und Parathion beschrieben worden (11, 39, 43).

Es ist hierbei allerdings zu bedenken, daß das Zungenbein ein relativ dünnes und nur locker befestigtes Skelettelement ist, dessen Form auch bei unbehandelten Hühnern gelegentlich variiert (Seite 36). Es besteht jedoch nicht nur ein quantitativer, sondern auch ein qualitativer Unterschied zwischen den Zungenbeinveränderungen der Experimentalkeime und denen der Kontrollkeime.

Die Ursachen der in dieser Arbeit beschriebenen Scapulamißbildungen liegen vielleicht in der verstärkten Thoraxlordose, die zu einer Annäherung von Becken und Scapula führt. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß die Scapulakrümmungen bei starken Proportionsveränderungen des Rumpfes am größten sind. Andererseits könnte es sich bei mäßigen Scapulakrümmungen auch um die Beibehaltung der frühen embryonalen Bogenform der Scapula handeln. Veränderungen der Scapula wurden auch von GATEAU (12) nach Nikotiningabe an Hühnerembryonen beschrieben.

LANDAUER beschreibt Gelenkanomalien der Tibiotarso -Tarso metatarsal-Gelenke, die durch Carbachol, Parathion und auch durch Acetylcholin hervorgerufen werden (32, 34). Bei seinen Carbachol-behandelten Keimen tritt die Anomalie fast doppelt so häufig auf wie die Muskelhypoplasie. In meinem Untersuchungsmaterial traten keine Gelenkanomalien auf. Da die von mir analysierten Feten wesentlich jünger (12 bis 14 Tage) waren als die von Landauer beschriebenen (18 Tage), und die Mißbildungen sich teilweise erst im Verlauf der Entwicklung realisieren, mag hier die Ursache für die beobachtete Diskrepanz liegen.

Verkürzungen des Oberschnabels werden durch Carbachol, 3-acetylpyridin und Ethionin hervorgerufen (30, 31, 32, 38). Diese Veränderungen unterscheiden sich prinzipiell von dem "Parrotbeak", der von bestimmten Cholinomimetika (Seite 56), aber auch von anderen Substanzen wie z. B. TEM (25) hervorgerufen werden kann.

Die Frage nach der Ursache der Seitenbevorzugung der Halsbeugung kann nicht eindeutig beantwortet werden. Rechtsbeugung des Halses

nach Cholinomimetikagabe ist bisher nicht beschrieben worden. Jedoch wird von einigen Autoren (4, 32) eine Asymmetrie der Muskelhypoplasie, die bevorzugt am rechten Bein auftritt, erwähnt. Bei meinem Untersuchungsmaterial ist eine solche Asymmetrie nicht nachzuweisen. Eine bevorzugte Fusion der rechten Halswirbelanteile wird von MEINIEL nach Parathiongabe an Wachteln beschrieben (40). Die Rechtsbetonung gewisser Merkmale könnte mit der physiologischen Wendung des Embryos auf die linke Seite zusammenhängen, wodurch die rechte Seite des Keimes frei liegt, während die linke Seite auf dem Eidotter ruht.

C) Unspezifische Veränderungen

Die Ödeme und Hämatome, die das Carbachol hervorruft, sind wahrscheinlich als unspezifische Störungen anzusehen. Sie sind eine häufige Reaktion auf die verschiedensten experimentellen Eingriffe und auch als Behandlungsfolge bei den meisten Cholinomimetika, aber auch anderen Teratogenen, beschrieben worden, z. B. nach der Gabe von Amphetamin (28), Aristamid (54), TEM (25) und SP54 (27). Beim "crooked-neck-dwarf" treten Ödeme erstmals am 11. Inkubationstag auf. Veränderungen dieser Art deuten auf eine Störung der Elektrolyt- und Flüssigkeitsbalance hin. Den Nachweis, daß Acetylcholin auch eine Funktion bei der Regulation der Membranpermeabilität besitzt, hat HOKIN (19, 20) erbracht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Cholinomimetika ähnliche Wirkungen ausüben (23), die in der Folge zu Ödemen und Hämatomen führen. Möglicherweise führen solche Störwirkungen allgemeiner Art auch zu dem gehäuften Auftreten von Minimalvarianten der Experimentalkeime an Rippen, Becken und Schwanz, ebenso wie zu dem partiellen geringen Entwicklungsrückstand (Seite 26) und den je zweimal aufgetretenen Mißbildungen an Trachea und Herz. Es ist bekannt, daß Veränderungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes zu Entwicklungsrückstand und gehäuften spontanen Mißbildungen führen (18).

D) Erörterung der Phasenspezifität

Bei Behandlung zwischen dem 1. und 4. Embryonaltag zeigt keine der durch Carbachol hervorgerufenen Mißbildungen Phasenspezifität.

In ähnliche Richtung deuten Befunde von Meinzel (43). Er erhält mit Parathion dem Carbachol-Komplex ähnliche Mißbildungen. Noch nach Parathiongabe am 12. oder sogar am 16. Inkubationstag entstanden innerhalb von fünf Stunden Halsskoliosen. Die axialen Mißbildungen sind ähnlich nach früher wie nach der sehr späten Behandlung, aber Wirbelverschmelzungen sind umso seltener je später die Embryonen behandelt wurden. Eine systematische Prüfung der morphologischen Defekte unter dem Aspekt möglicher Behandlungsphasen-spezifität wurde von Meinzel nicht vorgehommen.

Die teratogene Gesamtwirkung des Carbachols zeigt innerhalb der Entwicklung jedoch quantitative Unterschiede. Sie ist am stärksten nach 48 bzw. 72 Inkubationsstunden (Seite 39). Dies deckt sich mit den Befunden von LANDAUER (32), der nach Carbacholbehandlung 72-stündiger Keime die höchste Mißbildungsrate, relativ hohe Mißbildungsraten bei 48- und 96-stündigen Keimen und relativ niedrige Raten nach Behandlung 24-stündiger und 120-stündiger Keime fand. Aus diesem Grund glaubt LANDAUER, daß die Wirkung des Carbachol sehr bald nach der Injektion auftreten muß, da sonst nicht verständlich wäre, wieso eine Gabe nach 120 Stunden so viel weniger bewirkt als eine nach 96 Stunden, obwohl doch die gleiche Art von Mißbildungen hervorgerufen wird. GATEAU (12) findet bereits 5 Stunden nach Nikotinsulfatgabe an 2- bis 4-tägige Hühnerembryonen eine Deformation der Chorda, 24 Stunden nach Behandlung Krümmungen des Neuralrohres. Eine ähnlich rasche Wirkung des Parathion ist von MEINIEL (43) beschrieben.

E) Entstehung der Mißbildungen

Die Gabe von Carbachol führt (ab dem 3. Bruttag) zu Verkrümmungen der Chorda und des Neuralrohres und zu Verformungen der Somiten und Myotome. Die Wirbel- und Rippenanlagen sind zunächst trotz der gekrümmten Achse normal geformt. Erst einen Tag später zeigen sie Verkrümmungen, noch später verwachsen sie. Am 7. Tag treten erstmals Verkrümmungen am sich gerade verknorpelnden Zungenbein auf. Formveränderungen des

Sternums scheinen sogar erst um den 10. Tag herum zu entstehen; seine Spaltung tritt früher auf. Um den 10. Tag dürfen sich auch die Zehenkrümmungen entwickeln. Erst um den 12. bis 14. Brutttag entsteht die Muskelhypoplasie. Aus den vorstehenden Untersuchungen ist zu ersehen, daß die Entwicklung des Abänderungsmusters stufenweise vor sich geht und, daß ein Teil der Mißbildungen erst sekundär, nach zunächst normaler Entwicklung auftritt.

In der Literatur werden unterschiedliche Auffassungen über die Ursachen von ähnlichen Mißbildungen wie den eben beschriebenen vertreten.

GATEAU (12) beschreibt eine durch Nikotin hervorgerufene beschleunigte Vermehrung der Chordalzellen, welche zu einer abnormalen Verlängerung der Chorda führt und die Ursache der Chordakrümmung sein kann. Auch GATEAU, ebenso wie STRUDEL (51), können erstmals am dritten Tag Mißbildungen feststellen. Im Gegensatz dazu werden nach MEINIELS Untersuchungen (43) durch Gabe von Organophosphaten frühestens am vierten Tag Mißbildungen sichtbar. Er schildert, daß nach Parathiongabe die ersten morphologischen Veränderungen Kompressionen der Myotome sind; später erst folgen Verkrümmungen von Chorda und Neuralrohr.

Die Wirbelmißbildungen nach Nikotinsulfatgabe hält STRUDEL (51) für eine unmittelbare Folge der Chorda- und Neuralrohrveränderungen. Nach MEINIELS Untersuchungen der Parathionwirkung treten die Verschmelzungen der Wirbelanlagen dagegen sekundär auf, so wie dies auch in dieser Arbeit für die Wirkung von Carbachol beschrieben ist. Demnach müssen die Wirbelfusionen, die durch Parasympathomimetika verursacht sind, nicht notwendigerweise auf veränderte Chorda- und Somitenformen zurückzuführen sein. MEINIEL vermutet die Ursache in der veränderten Muskelfunktion, die sich in Paralyse oder Kontraktion ausdrücken kann. Es ist bekannt, daß Bewegungen auf die Bildung von Gelenken und Knochen einen Einfluß haben (6). Von dieser Hypothese ausgehend, würde sich auch ein Teil der durch Carbachol hervorgerufenen morphogenetischen Veränderungen erklären lassen. Krümmungen von Chorda

und Neuralrohr treten erstmals zu dem Zeitpunkt der frühesten Myoblastenkontraktionen auf, die um den 3. bis 4. Tag herum stattfinden (1). Die späte Entwicklung der Muskelhypoplasie (um den 12. bis 14. Brutttag) widerspricht dieser Hypothese nicht notwendigerweise: Auch GIACOBINI (13) erhält nach α -Neurotoxingabe an 3-tägige Hühnerembryonen erst um den 12. Inkubationstag herum eine Muskelhypoplasie vor allem der Beine, die sich bis zum Schlüpfen verstärkt. Die sekundären Verbiegungen der Wirbelbögen und Rippen könnten durch eine anormale Funktion der an ihnen ansetzenden Muskeln verursacht sein. Ebenso könnten auch die Verkrümmungen des Zungenbeins (43), möglicherweise auch die in dieser Arbeit beschriebenen Knicke des Os pubis und der Scapula erklärt werden.

Die Untersuchungen führten zu einem eindeutigen Ergebnis: Nach Carbacholbehandlung während der Primitiventwicklung und zu Beginn der Organogenese entsteht mit großer Regelmäßigkeit ein charakteristisches Mißbildungsmuster, das unabhängig von der Behandlungsphase die gleichen skeletalen Veränderungen aufweist. Damit ist nachgewiesen, daß das Carbachol physiologische Prozesse stört, die während der ganzen Embryonalzeit ablaufen und daß nicht kurzfristige epigenetische Prozesse wie z. B. Blastembildungen betroffen sind.

VI. Zusammenfassung

Hühnerkeime wurden nach 24, 48, 72 oder 96 Brutstunden einmalig mit einer Injektion von 1,75 mg Carbachol in den Dottersack behandelt. Die meisten Keime wurden nach Entwicklung des Primärskeletts am 10., 12. oder 14. Bruttag dem Ei entnommen und zu doppeltgefärbten (Knorpel-Knochen-) Aufhellungspräparaten verarbeitet. Ihr Skelett wurde anschließend mit dem normaler Kontrollkeime verglichen. Einige Keime wurden bereits zwischen 2. und 8. Bruttag dem Ei entnommen. An diesen ungefärbten oder auch gefärbten aufgehellten Totalpräparaten sowie an Schnittserien, je eines 4-tägigen Normal- und Experimentalkeims, wurde die Entwicklung der Skelettmißbildungen verfolgt.

Unabhängig vom Behandlungszeitpunkt führte das Carbachol zu dem gleichen Mißbildungsmuster. Abgesehen von Ödemen und Hämatomen erzeugte die Behandlung in erster Linie Skelettmißbildungen und bei etwa 80 % der Versuchskeime eine Beugung des Halses auf die rechte Seite, ferner Zehenkrümmungen und Hypoplasie der Beinmuskulatur. Im Skelett war vor allem die Halswirbelsäule mißbildet. Wirbelbögen und -körper waren unregelmäßig miteinander verwachsen und ein Teil der Wirbelbögen gespalten. Die Mißbildungen betrafen fast immer mindestens die ersten 7 Wirbel und reichten teilweise bis zum 14. Wirbel. Die Thoracal- und Caudalwirbelsäule war in geringerem Maße von Mißbildungen betroffen. Sie war häufig gestaucht, so daß die Scapula in einigen Fällen den cranialen Beckenrand bedeckte. Vielfach waren die Rippen gekrümmt und verwachsen. Das Sternum zeigte fast regelmäßig eine Spaltung und Mißbildung des Sternalschwertes. Leichtere Veränderungen betrafen Zungenbein und Scapula, selten war das Os pubis verändert. Das Extremitätenskelett war normal.

Bei der Untersuchung der Frühstadien zeigten sich Krümmungen von Chorda und Neuralrohr und Unregelmäßigkeiten in der Segmentierung, die sich 24 Stunden nach der Behandlung (vom 3. Bruttag an) bildeten. Die Veränderungen betrafen in erster Linie den Halsbereich, wo die Chorda 5 bis 8 Biegungen entwickelte. Im Rumpfbereich bildete die Chorda eine Lordose. Ent-

sprechend waren die äußeren Rückenkonturen verändert.

Verwachsungen der Wirbel erschienen vom sechsten Tag an; sie lagen vorzugsweise im Bereich stärkerer Chordakrümmungen. Zu diesem Zeitpunkt waren die Rippenanlagen noch normal gebildet, jedoch einen Tag später traten auch hier erste Veränderungen auf.

VII. Literaturangaben

- 1) Alconero, B.B., The nature of the earliest spontaneous activity of the chick embryo. *J. Embryol, Exp. Morph.* 13, 255-266 (1965)
- 2) Asmundson, V.S., Crooked neck dwarf in the domestic fowl. *J. Hered.* 36, 173-176 (1945)
- 3) Bellairs, A.D.A., Jenkin, C.R.; The skeleton of birds, in: *Biology and comparative physiology of birds*, vol. I Ed A.J. Marshall, N Y and London: Acad. Press (1960)
- 4) Bueker, E.D. and W.S. Platner, Effects of cholinergic drugs on development of chick embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 91, 539-543 (1956)
- 5) Couch, Winstead, Goodman; Kepone-induced scoliosis and its histological consequences in fish. *Science* 197, 585-587 (1977)
- 6) Drachman, D.B., Sokoloff, L.; The role of movement in embryonic joint development; *Develop. Biol.*, 14, 401-420 (1966)
- 7) Drachman, D.B., Atrophy of skeletal muscle in chick embryo treated with botulinum toxin, *Science*, 147, 719-721 (1964)
- 8) Du Toit, P.J., Untersuchungen über das Symsacrum und den Schwanz von *Gallus domesticus*, *Jena, Zeits. Med. Naturw.*, 44 (1913)
- 9) Erhardt, Rusching, Arzneimittel, Entwicklung, Wirkung, Darstellung, Bd 2, Kap 2, 43-131; Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße (1972)
- 10) Fell, H., The origin and development mechanics of the avian sternum, *Phil. Trans.*, 229, 407-463 (1939)
- 11) Fere, C.; De l'influence de la Nicotine injectée dans l'albumen sur l'incubation de l'oeuf de poule, *C.R. Soc. Biol.*, 17, 11-13 (1895)
- 12) Gateau, G.; Contribution a l'étude des malformations du squelette axial provoquées par des agents cholinergiques chez l'embryon d'oiseau. Diplôme de l'école pratique des hautes études; 3e section; Laboratoire d'embryologie expérimentale de L'E.P.H.E.; (1978)
- 13) Giacobini, G., G. Filogamo, M. Weber, P. Boquet and J.P. Changeux, Effects of a snake α -toxin on the development of innervated skeletal muscles in chick embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70, 1708-1712 (1973)

- 14) Greenberg, J., Q.N. La Ham, Reversal of Malathionin-induced teratisms and its biological implications in the developing chick, *Can. J. Zool.*, 48, 1047-1053 (1970)
- 15) Hamburger, V. and Hamilton, H.L., A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.*, 88, 49-92 (1952)
- 16) Hamilton, H.L., Lillie's development of the chick, an introduction to embryology, 3rd ed., N.Y.; Holt, Rinehart & Winston; (1952)
- 17) Hensinger, R., J. Lang, G.D. MacEwen, Klippel-Feil-Syndrome, a constellation of associated Anomalies, *The J. of Bone and Joint surgery*, 56-A, No6, 1246-1253 (1974)
- 18) Hellmann, u., L.B. Flexner, Permeability of human placenta to sodium in normal and abnormal pregnancies and supply of sodium, to human fetus as determined with radioactive sodium. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 55, 469 (1948)
- 19) Hokin, L.E., Functional activity in glands and synaptic tissue and the turnover of phosphatidylinositide. *Annals of the N.Y. Acad. of Sciences.* 165, 695-709 (1969)
- 20) Hokin, L.E. and Hokin, M.R., Studies on the carrier function of phosphatidic acid and phosphoinositide in the avian salt gland on stimulation of secretion, *J. of Gen. Phys.*, 44, 61-85 (1960)
- 21) Hong, Cleft sternum in a Guinea pig. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173 (9), 1253-1254 (1978)
- 22) Iseki, J. and A. Yamada, Studies on teratogenic substances, II. Effect of several pesticides on chick embryo, *Rep. Osaka City Inst. Hyg.* 28, 133-139 (1966)
- 23) Karczmar, A.G., R. Srinivasan, Bernsohn, Cholinergic Function in the developing fetus, in: *Fetal Pharmacology*; L. Boreus, Raven Press, NY (1973)
- 24) Khera, K.S. and S. Bedok, Effect of thiol. phosphate on notochordal and vertebral morphogenesis in chick and duck embryos. *Food. Cosm. Toxic* 5, 359-365 (1967)
- 25) Kocher, W., Die Wirkungsmuster des Triäthylmelamin (TEM) und ihre Behandlungsphasenspezifität während der Organogenese des Hühnerkeims, I. Veränderungen der Körpermaße, der äußeren Form und der Oberflächenstrukturen, *Wilhelm Roux Archiv*, 162, 161-196 (1969)
- 26) Kocher, W., Die Wirkungsmuster des Triäthylmelamin (TEM) und ihre Behandlungsphasenspezifität während der Organogenese des Hühnerkeims, II. Veränderungen des knorpeligen Primordialskeletts der Extremitäten und des Rumpfes, *Wilhelm Roux Archiv*, 165, 53-86 (1970)

- 27) Kocher-Becker, U., W. Kocher and H.-J. Merker, Morphogenetic effects of the Pentosanpolysulfoester SP54 on the Chick Embryo. Role of Pharmacokinetics in prenatal and perinatal toxicology, Thieme Stuttgart, Third Symposium on prenatal Development (Berlin) (1978)
- 28) Kolesari, G.L., S. Kaplan, Amphetamines reduce embryonic size and produce caudal hematomas during early chick morphogenesis, *Teratology*, 20, 408-412 (1979)
- 29) Landauer, W., Insulin induced abnormalities of beak, extremities and eyes in chickens, *J. Exp. Zool.*, 105, 145-172 (1947)
- 30) Landauer, W., Niacin antagonists and chick development, *J. Exp. Zool.*, 136, 509-530 (1957)
- 31) Landauer, W., Nicotine induced malformations of chicken embryos and their bearing on the phenocopy problem, *J. Exp. Zool.*, 143, 107-121 (1960)
- 32) Landauer, W., Cholinomimetic teratogens: I. Studies with chicken embryos. *Teratology*, 12, 125-146 (1975)
- 33) Landauer, W., Cholinomimetic teratogens: II. Interaction with organic ions. *Teratology*, 12, 271-276 (1976)
- 34) Landauer, W., Cholinomimetic teratogens: III. Interaction with amino-acids known as neurotransmitters. *Teratology*, 13, 41-46 (1976)
- 35) Landauer, W., Cholinomimetic teratogens: IV. Effects of the genotype for muscular dystrophy in chickens. *Teratology*, 14(3), 281-286 (1976)
- 36) Landauer, W., Cholinomimetic teratogens: V. The effect of oximes and related cholinesterase reactivators. *Teratology*, 15(1), 33-42 (1977)
- 37) Landauer, W. and Salam, N., Quantitative and qualitative distinctions in developmental interference produced by various substituted pyridines. Molecular shape and teratogenicity as studied on chicken embryos. *Acta. Embryol. Exp.*, 2, 179-197 (1973)
- 38) Landauer, W. and Salam, N., The experimental production in chicken embryos of muscular hypoplasia and associated defects of beak and cervical vertebrae, *Acta. Embryol. Exp.*, 1, 51-66 (1974)
- 39) Lu, C., N. Matatsumoto, S.J. Jima, Teratogenic effects of nickel-chloride on embryonic mice and its transfer to embryonic mice. *Teratology*, 19, 137-142 (1979)
- 40) Meiniel, R., Effects tératogène du parathion (insecticide organophosphoré) sur le squelette embryonnaire de la caille japonaise. *Arch. Anat. microsc.*, 59, 167-187 (1970)

- 41) Meiniet, R., L action tératogène d'une insecticide organophosphoré (le Parathion) chez l'embryon d'oiseau, Arch. Anat. Hist. Embryol., nom et exp. 56, 97-100 (1973)
- 42) Meiniet, R., Malformations squelettiques axiales chez les embryons de poulet et de caille issus d'oeufs traités par le parathion à différents stades d'incubation, S.R.Soc. Biol., 167 459-462 (1973)
- 43) Meiniet, R., Teratogénie des anomalies axiales induites par un insecticide organophosphoré (le Parathion) chez l'embryon d'oiseau, Wilhelm Roux's Archives, 181, 41-63 (1977)
- 44) Meiniet, R., Agents anticholinestérasiques et tératogénèse axiale chez l'embryon de caille, Wilhelm Roux's Archives, 185, 209-225 (1978)
- 45) Meiniet, R., Neuromuscular blocking agents and axial teratogenesis in avian embryo. Can axial morphogenetic disorders be explained by pharmacological action upon muscle tissue? Teratology, 23, 259-271 (1981)
- 46) Moscioni, A.D., J.L. Engel and J.E. Casida, Kynurenine formidase inhibition as a possible mechanism for certain teratogenic effects of organophosphorus and methylcarbamate insecticides in chicken embryos, Biochem. Pharmacol. 26, 2251-2258 (1977)
- 47) Proktor, N.H., A.D. Moscioni, Casida, J.E., Chicken embryo NAD levels lowered by teratogenic organophosphores and methyl-carbamate insecticides, Biochem. Pharmacol., 25, 757-762 (1976)
- 48) Ranzi, S., On lithium and thiocyanate action on embryonic development and metabolism. Revue Suisse Zool, 82(1), 91-100 (1975)
- 49) Roger, I.C., D.G. Upshall, J.E. Casida, Structure activity and metabolism studies on organophosphate teratogens and their alleviating agent in developing hen eggs with special emphasis on bidrin. Biochem. Pharmacol., 18, 373-392 (1969)
- 50) Sherk, H.H., L. Shut, St. Cheng, Iniencephalic deformity of the cervical spine with Klippel-Feil Anomalies and congenital elevation of the scapula. J. of Bone and Joint Surgery, 56-A (6), 1254-1259 (1974)
- 51) Strudel, G., Action tératogène du sulfate de nicotine sur l'embryon de poulet. C.R. Acad. Sci. D., 272, 673-676 (1971)
- 52) Theiler, K., Das Wirbel-Rippen-Syndrom, Schweiz. med. Wschr., 98, 907-908 (1968)

- 53) Theiler, K., D.S. Varnum, I.L. Southard, L.E. Stevens, Malformed vertebrae: A new mutant of the "Wirbel-Rippen-Syndrom" in the mouse, Anat. Embryol., 147, 161-166 (1975)
- 54) Tisna-Amidjaja, A.S., Wachstumsbeeinflussung durch Acetylcholin, Histamin, Alloxan, Nadisan, Aristamid, Nikotinsäureamid und p-Aminobenzoesäure beim Hühnerembryo, Wilhelm Roux's Archiv, 150, 655-688 (1958)
- 55) Upshall, D.G., I.C. Roger, I.E. Casida, Biochemical studies on the teratogenic action of bidrin and other neuroactive agents in developing hen eggs, Biochem. Pharmacol., 17, 1539-1542 (1968)
- 56) Wellhöner, H.-H., Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie; p.189-204; Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976)
- 57) Wolff, Et., Les bases de la tératogenèse expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats des méthodes directes, Arch. Anat. Histol. Embryol., 22, 1-382 (1936)

Für die Anregung zu dieser Arbeit,
sein stetes Interesse an deren
Fortgang und für seinen persönlichen Einsatz danke ich besonders
Herrn Professor Dr. W. Kocher.

Für stetige freundliche und sachkundige Unterstützung, namentlich bei der Anfertigung und Entwicklung der Photographien, sowie bei der Ausführung der Färbungen danke ich den Mitarbeitern seiner Arbeitsgruppe, mein ganz besonderer Dank gilt
Frau Priv. Doz. Dr. U. Kocher-Becker
und Frau L. Becker.

Lebenslauf

Am 15. März 1956 wurde ich in Berlin geboren.

Von 1962 bis 1968 besuchte ich die Waldgrundschule in Berlin und von 1968 bis 1974 die Wald-Oberschule in Berlin, bei der ich im Dezember 1974 das Abitur ablegte.

Vom Sommersemester 1975 bis zum Sommersemester 1981 studierte ich an der Freien Universität Berlin Medizin und bestand im Oktober 1981 die Ärztliche Prüfung.

Seit Januar 1982 bin ich approbiert und arbeite seit dem 1. April 1982 als Assistenzärztin im Kreiskrankenhaus Lübecke/NRW.

Cordula Rautenberg

